Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G.G. Wendt

Polymorphismus des Apolipoproteins E: Einfluß eines einzigen polymorphen Genlocus auf den Plasmalipidspiegel des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin des Fachbereiches Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Armin Steinmetz
aus Erfenbach

Marburg/Lahn 1979

Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G.G. Wendt

Polymorphismus des Apolipoproteins E: Einfluß eines einzigen polymorphen Genlocus auf den Plasmalipidspiegel des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin des Fachbereiches Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Armin Steinmetz
aus Erfenbach

Marburg/Lahn 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 29.06.1979
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Professor Dr. F. Neurath
Referent: Dr. habil. G. Utermann
Correferent: Professor Dr. G.G. Wendt

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhalt

1. Einführung (S. 1)

1.1. Allgemein (S. 1)

1.1.1. Bedeutung der Hyperlipidämien (S. 1)
1.1.2. Lipoproteine (S. 2)
1.1.3. Phänotypische Einteilung der Hyperlipoproteinämien (S. 6)
1.1.4. Genetische Einteilung familiärer Fettstoffwechselstörungen (S. 8)

1.2. Primäre Dysbetalipoproteinämie (Hyperlipoproteinämie Typ III) (S. 11)

1.2.1. Klinik (S. 11)
1.2.2. Pathophysiologie (S. 12)
1.2.3. Definition und Diagnose (S. 15)
1.2.4. Erbgang (S. 18)
1.2.5. Häufigkeit (S. 21)

2. Eigene Untersuchungen (S. 23)

2.1. Fragestellung der Arbeit (S. 23)
2.2. Material und Methoden (S. 24)
2.3. Ergebnisse (S. 30)
2.3.1. Vergleich der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode mit der Ultrazentrifugenaufarbeitung (S. 30)
2.3.2. Stabilität der Apo E-Phänotypen (S. 38)
2.3.3. Formale Genetik des Apo E-Polymorphismus und der Apo EIV+ Variante (S. 39)
2.3.4. Vergleichende lipidchemische Untersuchungen der Phänotypen Apo E-D, Apo E-ND und Apo E-N (S. 48)
2.3.4.1. Vergleich der phänotypischen Gruppen Apo E-N und Apo E-D (S. 48)
2.3.4.2. Vergleich der phänotypischen Gruppen Apo E-N und Apo E-ND (S. 54)
2.3.4.3. Vergleich der Lipidelektrophoresemuster der Apo E-Phänotypen (S. 66)

3. D i s k u s s i o n (S. 70)

3.1. Diskussion der methodischen Untersuchungen zum Apo E-Polymorphismus (S. 70)

3.2. Diskussion der formalen Genetik des Apo E-Polymorphismus und der primären Dysbetalipoproteinämie (S. 73)

3.3. Diskussion des Einflusses des Gens Apo E^d auf den Plasmalipidspiegel des Menschen (S. 78)

4. Z u s a m m e n f a s s u n g (S. 84)

5. A n h a n g (S. 86)

6. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s (S. 97)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0061

1. Einführung

1.1. Allgemeines

1.1.1. Bedeutung der Hyperlipidämien

Die Bedeutung der Hyperlipidämien - im Besonderen der familiären Formen - als einer der Risikofaktoren für die Entstehung von Arteriosklerose steht heute außer Zweifel.
Die engen Beziehungen zwischen Hyperlipidämien und z.B. koronaren Herzerkrankungen konnten in zahlreichen Studien von verschiedenen Arbeitsgruppen nachgewiesen werden (15,103). Goldstein und Mitarbeiter (31) fanden bei 500 Patienten, die einen Herzinfarkt überlebt hatten, eine gegenüber der Normalbevölkerung deutlich erhöhte Frequenz von Hyperlipidämien (157 Patienten). Familienuntersuchungen bei diesen hyperlipämischen Patienten zeigten, daß dabei die familiären Formen ganz im Vordergrund standen (32). Gleichzeitig erwies sich, daß dabei der Hypertriglyzeridämie eine ähnlich große Bedeutung wie der Hypercholesterinämie zukommt. Im Rahmen einer schwedischen Studie zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen Herzinfarktraten und Konzentrationen von Triglyzeriden bzw. Cholesterin im Nüchternplasma (12). Aus dieser Tatsache resultiert das derzeitige große Interesse am Metabolismus der Plasmalipoproteine, an der Pathophysiologie und an der Genetik dieser Stoffwechselstörungen.

1.1.2. Lipoproteine

Im Plasma werden die apolaren, hydrophoben Lipide in Form von Lipid-Protein-Komplexen (= Lipoproteinen) transportiert (23). Den Proteinanteil der Lipoproteine bilden die Apoproteine, die u.a. Lösungsvermittler für die hydrophoben Lipide sind. Der Apoproteinanteil der Lipoproteine setzt sich aus unterschiedlichen Proteinkomponenten zusammen. Diese Proteine werden nach der Nomenklatur von Alaupovic (2) als Apo A (Polypeptide AI und AII), Apo B, Apo C (Polypeptide CI, CII und CIII), Apo D und Apo E bezeichnet. Die für die einzelnen Lipoproteinklassen charakteristischen Apoprotein-Zusammensetzungen zeigen Tab. I und Abb. 1. Beim Metabolismus der Lipoproteine werden die Partikel sowohl in ihrem Lipid - als auch in ihrem Proteinanteil umgebaut.
Die Größe der Lipoprotein-Makromoleküle reicht von ungefähr 75 Å Durchmesser (MG ≃ 175 000) bis zu einer Partikelgröße von mehr als 1 µm mit entsprechend größeren Molekulargewichten. Mit abnehmender Partikelgröße nimmt der prozentuale Proteinanteil (= Apoproteine), mit zunehmender Partikelgröße der prozentuale Lipidanteil zu.
Die unterschiedliche Zusammensetzung der Partikel aus Lipid- und Proteinanteil bewirkt die unterschiedliche Dichte der Lipoproteine.
Auf dieser physikalischen Eigenschaft beruht die Trennung der Lipoproteine mit Hilfe der Ultrazentrifuge in verschiedene Dichtebereiche. Die einzelnen Dichteklassen besitzen dabei bestimmte charakteristische Flotationskonstanten (sf).

Lipoprotein-klasse	Hauptsächliche Apoproteine	Apoproteine mit geringerem Anteil bzw. fraglich
Chylo-mikronen	Apo B Apo CI, CII, CIII	Apo AI, AII
VLDL	Apo B Apo CI, CII, CIII Apo E	Apo AI
LDL	Apo B	Apo E Apo CI, CII, CIII
HDL	Apo AI, AII	Apo CI, CII, CIII Apo D (= AIII ?)

Tab. I: Apolipoproteinzusammensetzung der Lipoproteine

Eine weitere Trennungsmöglichkeit bietet die Elektrophorese, die Ladungs- und Größendifferenzen der Partikel ausnutzt. Ultrazentrifugen und Elektrophoresetechniken stellen die gebräuchlichsten Methoden zur Darstellung der Lipoproteine dar (s. Abb. 1). Die klassische Einteilung unterscheidet hiernach vier Lipoproteingruppen (5, 87):

1) Chylomikronen

Sie bestehen zu fast 90 Gew. % aus exogenen (mit der Nahrung aufgenommenen) Triglyzeriden und werden in der Darmmukosa gebildet. Sie haben eine Dichte von 0,9 - 0,94 g/ml und flotieren in der Ultrazentrifuge mit einer Flotationskonstanten sf > 400. Bei der Elektrophorese bleiben sie am Auftragungsort liegen. Sie fehlen bei Stoffwechselgesunden im Nüchternplasma.

2) Very low density lipoproteins (VLDL)

Sie bestehen zu etwa 60 Gew. % aus endogenen (vom Körper selbst synthetisierten bzw. aus Vorräten mobilisierten) Triglyzeriden. Je ungefähr 15 Gew. % machen Cholesterin und Phospholipide aus. Der Rest besteht neben einer Spur Kohlehydrat aus Protein. Ihre Dichte beträgt 0,94 - 1,006 g/ml. Sie flotieren in der Ultrazentrifuge mit einer Flotationskonstanten zwischen sf (400 - 20) und wandern in der Elektrophorese im prä-β-Bereich (prä-β-Lipoproteine).

3) Low density lipoproteins (LDL)

Ihre Hauptkomponente stellen Cholesterin und Cholesterinester (42 Gew. %). Proteine nehmen 25 %, Phospholipide 22 % und Triglyzeride 10 % des Gewichtes ein. Auch eine Spur Kohlehydrat läßt sich nachweisen. Der Dichtebereich liegt zwischen 1,006 g/ml und 1,019 g/ml für LDL_1 und zwischen 1,019 g/ml und 1,063 g/ml für LDL_2. Sie flotieren in der Ultrazentrifuge mit einer Flotationskonstanten von sf 20 - 0 und wandern in der Elektrophorese im β-Bereich (β-Lipoproteine).

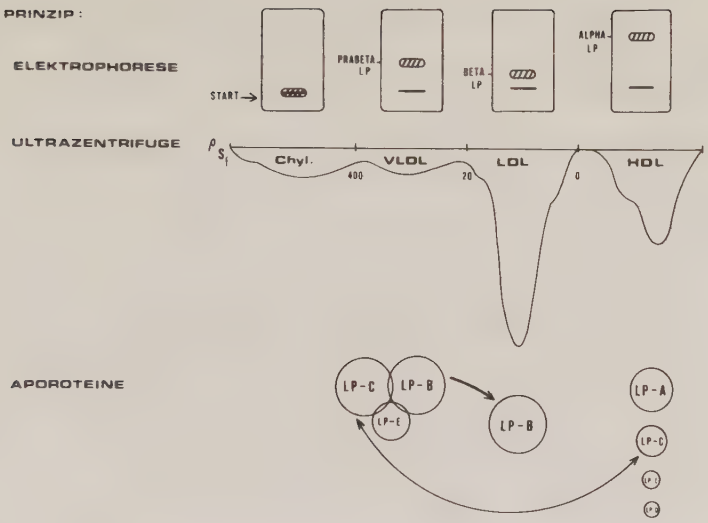


Abb. 1: Einteilung der Plasma Lipoproteine

4) <u>High density lipoproteins (HDL)</u>

Den Hauptanteil am Gewicht nimmt das Protein ein (45 %). Phospholipide stellen 30, Cholesterin 20 und Triglyzeride 5 % des Gewichtes, neben einer Spur Kohlehydrat. Der Dichtebereich liegt für HDL_2 zwischen 1,063 g/ml und 1,125 g/ml und für HDL_3 zwischen 1,125 g/ml und 1,210 g/ml. Sie wandern am weitesten in der Elektrophorese in der α_1-Position (α_1-Lipoproteine).

Da Plasmalipide in Form von Lipoproteinkomplexen vorkommen, geht eine Lipiderhöhung immer mit einer Lipoproteinzunahme einher. Man kann daher eine Hyperlipidämie mit einer Hyperlipoproteinämie gleichsetzen.

1.1.3. Phänotypische Einteilung der Hyperlipoproteinämie

Fredrickson, Levy und Lees schlugen 1967 ein Einteilungsschema der primären (= familiären) Hyperlipoproteinämien vor, das sich an dem Erscheinungsbild (Phänotyp) der Hyperlipoproteinämien in der Elektrophorese orientierte (sog. phenotyping) (23). Sie betonten jedoch gleichzeitig, daß ihr Schema lediglich eine Übergangslösung darstelle, das, sobald die für die Hyperlipoproteinämien verantwortlichen Defekte im Metabolismus bekannt seien, durch eine Klassifikation nach diesen Basisdefekten ersetzt werden müsse.
Dieser Einteilungsvorschlag fand in modifizierter Form Anerkennung im Klassifikationssystem der WHO 1970. Danach wurden die Hyperlipoproteinämien in 6 Typen eingeteilt (5):

Typ I: Hyperchylomikronämie

Kriterium:
- Chylomikronen massiv erhöht
- prä-β Lipoproteine normal oder leicht erhöht
- β-Lipoproteine und α_1 Lipoproteine sehr niedrig

Das trübe Plasma klärt sich beim Stehen, indem sich Chylomikronen auf der Oberfläche "abrahmen".

Typ II (a und b): Hyperbetalipoproteinämie

Kriterium: Abnorm hohe β-Lipoprotein-Konzentration

IIa) bei normaler prä-β-Lipoprotein Konzentration
= reine Hypercholesterinämie

IIb) bei gleichzeitig erhöhter prä-β-Lipoprotein Konzentration
= Hypercholesterinämie und Hypertriglyzeridämie

Typ III: Broad-β-disease oder primäre Dysbeta-Lipoproteinämie

Kriterium:
- In der Lipidelektrophorese zieht sich eine breite Bande von der β- bis zur prä-β-Position.
- (mit Hilfe der Ultrazentrifuge: ein Teil der VLDL aus der Ultrazentrifuge wandert im β- anstatt im prä-β-Bereich = β-VLDL)

Typ IV: Hyperpräbetalipoproteinämie

Kriterium:
- erhöhte prä-β-Lipoprotein Konzentration
- normale β-Lipoprotein Konzentration
- keine Chylomikronen im Nüchternplasma vorhanden

Typ V: Hyperpräbetalipoproteinämie und Chylomikronämie

Kriterium:
- erhöhte prä-β-Lipoprotein Konzentration
- Chylomikronen sind vorhanden
- Chylomikronen setzen sich auf der Oberfläche beim Stehen ab, Serum bleibt jedoch trüb

Da sich die genannten Elektrophoresemuster auch bei Hyperlipoproteinämien zeigen, die sekundär als Begleiterscheinungen bei bekannten Erkrankungen wie z.B. Diabetes mellitus, nephrotischem Syndrom, Hypothyreose, Gallenabflußbehinderung, Pankreatitis, Dysglobulinämie auftreten, beantwortet diese Einteilung nicht die Frage nach der Ursache der Hyperlipoproteinämien. Jedes einzelne Lipoproteinmuster kann also Ausdruck ganz verschiedener Störungen sein. Diese Einteilung läßt auch bei primären Hyperlipoproteinämien keine Aussage über den Genotyp zu.

1.1.4. Genetische Einteilung familiärer Fettstoffwechselstörungen

Eine genetische Einteilung der familiären Hyperlipidämien wurde von der Seattle-Gruppe erarbeitet (31, 32, 41). Von 149 hyperlipidämischen Patienten und 27 normolipidämischen Probanden aus einer Gruppe von 500 Herzinfarkt-Überlebenden führten Hazzard und Mitarbeiter Familienuntersuchungen durch, um daraus die Erbgänge von Hyperlipidämien abzuleiten. Als Orientierung dienten die Serumlipidwerte von Patienten und Verwandten.
Man fand 3 häufige Formen von familiären Hyperlipidämien:

1) familiäre Hypercholesterinämie
2) familiäre Hypertriglyzeridämie
3) familiäre kombinierte Hyperlipidämie

Diese folgen, nach Auffassung der Autoren, einem monogenen autosomal dominanten Erbgang.
Unter der kombinierten familiären Hyperlipidämie wird nicht einfach die gemeinsame Erhöhung von

Triglyzeriden und Cholesterin im Nüchternplasma verstanden, sondern vielmehr die Tatsache, daß diese Krankheit von einem einzigen Gen determiniert wird, das verschiedene phänotypische Ausprägungen zeigt. So kann dies eine Gen eine Hypercholesterinämie, eine Hypertriglyzeridämie oder eine Erhöhung beider Lipidfraktionen bedingen.
Eine bestimmte familiäre Hyperlipidämieform kann sich in mehreren verschiedenen Lipoprotein-Phänotypen ausdrücken (s. Tab. II). Daraus folgern die Autoren, daß die Lipoprotein-Phänotypen keine qualitativen Marker im genetischen Sinne darstellen, sondern quantitative, die sogar innerhalb verschiedener Individuen mit dem gleichen metabolischen Defekt variieren können.

Eine genetische Einteilung, basierend auf den Ergebnissen der Seattle-Studie, erweitert um die bisher bekannten seltenen familiären Fettstoffwechselstörungen gibt Tabelle II (7, 10, 46, 47, 48, 51, 55, 58, 80, 83).

Form	Phänotyp nach Fredrickson u. Lees	Primärer Defekt	geschätzte Häufigkeit	Erbgang
Familiäre Hypercholesterinämie	II a, II b	a) LDL-Rezeptor fehlt b) LDL-Rezeptor defekt	ca. 1-2 pro 1000	autosomal dominant
Familiäre Hypertriglyzeridämie	IV, V	nicht bekannt	ca. 2-3 pro 1000	autosomal dominant
Kombinierte familiäre Hyperlipidämie	II a, II b, IV, V	nicht bekannt	ca. 3-5 pro 1000	autosomal dominant
Broad-β-Disease	III	Apo-E-Variante	wegen Definition unklar, selten	unklar
Lipoprotein-Lipase-Mangel	I, V	Lipoproteinlipase-Aktivität herabgesetzt oder fehlend	sehr selten	autosomal rezessiv
LCAT-Defizienz	breite β-Bande langsame α-Bande	Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase Aktivität fehlt	sehr selten	autosomal rezessiv
Analphalipoproteinämie (Tangier-Krankheit)	breite β-Bande α_1-Bande fehlt	Synthese von Apo A-I ?	sehr selten	autosomal rezessiv
Abetalipoproteinämie (2Formen)	β u. prä-β-Banden fehlen, Chylomikronen fehlen postprandial	Synthese von Apo B ?	sehr selten	autosomal rezessiv
Hypobetalipoproteinämie	schwache β-Bande	Synthese von Apo B ?	selten	autosomal dominant

Tab. II Genetische Einteilung der familiären Fettstoffwechselstörungen

1.2. Primäre Dysbetalipoproteinämie (Hyperlipoproteinämie Typ III)

Erstmals wurde die später als Hyperlipoproteinämie Typ III bezeichnete Fettstoffwechselstörung von Gofman und Mitarbeitern als eigenständiges Krankheitsbild beschrieben (Xanthoma tuberosum) (30). Als synonyme Bezeichnung für diese Erkrankung finden sich: familiäre Störung mit verbreiteter ß-Bande (Broad-ß-Disease), Störung mit flotierendem ß-Lipoprotein u.a.

1.2.1. Klinik

Über das klinische Erscheinungsbild sind sich die meisten Autoren einig. Von 47 Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III einer größeren Studie von Morganroth und Mitarbeitern (16) zeigten 64 % plane Handlinienxanthome (Xanthoma striata palmaris), 23 % Sehnenxanthome, 51 % tuberöse Xanthome, 4 % eruptive Xanthome, je 6 % Xanthelasmen bzw. einen arcus lipoides corneae. 37 % der Patienten litten unter ischämischen Herzerkrankungen, die bei Männern im Durchschnitt 10 Jahre früher diagnostiziert wurden als bei Frauen, und 29 % der Patienten zeigten peripher-vaskuläre Krankheiten.
Klinisch chemisch findet man die Triglyzeride mit durchschnittlich 699 mg/100 ml und das Cholesterin mit durchschnittlich 453 mg/100 ml im Serum deutlich erhöht. Gelegentlich lassen sich auch Chylomikronen im Nüchternserum nachweisen. Hyperuricämien und pathologische Glukosetoleranzen werden häufig assoziiert mit Hyperlipoproteinämie Typ III diagnostiziert (27,99).

Als typisch für die Hyperlipoproteinämie Typ III gelten plane Handlinienxanthome (23), sie sind jedoch nicht auf den Typ III beschränkt (69). Therapeutisch spricht die Krankheit bereits auf Gewichtsreduktion und Diät gut an. Eine kohlehydrat- und cholesterinarme Kost mit einem hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren genügt oft schon zur Normalisierung der Plasmalipide (23, 69, 101). Bei diätresistenten Hyperlipidämien des Typ III werden Clofibrat und andere lipidsenkende Medikamente mit Erfolg eingesetzt.
Weniger Einigkeit als über das klinische Erscheinungsbild des Typ III besteht über die Pathophysiologie dieser Fettstoffwechselstörung, über ihre Definition bzw. Diagnose, über den Erbgang und über die Häufigkeit ihres Auftretens in der Bevölkerung.

1.2.2. Pathophysiologie

Im Serum von Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III findet sich ein Lipoprotein, das in der Ultrazentrifuge bei einer Dichte von d = 1,006 g/ml (wie VLDL) flotiert, jedoch in der Lipidelektrophorese im β-Bereich (wie LDL) wandert. Dieses Lipoprotein wurde aufgrund seiner ungewöhnlichen Eigenschaften als "β-VLDL" bzw. "floating β" bezeichnet.
Ursprünglich vermutete Fredrickson, daß bei der Hyperlipoproteinämie Typ III diese β-VLD-Lipoproteine als abnorme Lipoproteine gebildet werden (23).
Nach heutiger Auffassung handelt es sich bei diesen cholesterinreichen Lipoproteinen (β-VLDL) um normale Zwischenprodukte im Katabolismus der triglyzeridreichen Lipoproteine (VLDL und/oder Chylomikronen), die sich durch einen Block im weiteren

Abbau zu abnorm hohen Konzentrationen anhäufen (8, 24, 37, 38). Man stellt sich den Abbau in zwei Stufen vor: Zuerst werden durch die Heparin-aktivierbare Lipoproteinlipase an den Kapillarendothelien aus den triglyzeridreichen Lipoproteinen "intermediäre Partikel" (remnants) gebildet, die reich an Cholesterin sind und einen Teil des Apoproteins C an die HDL abgegeben haben. Diese "Remnants" werden in einem zweiten Schritt zu LDL abgebaut. Über den genauen Mechanismus besteht noch Unklarheit, möglicherweise ist die Leberlipase an diesem zweiten Schritt beteiligt (33). Man diskutiert hierbei spezielle Rezeptoren für "Remnants" an den Leberzellen (21).
Hazzard und Mitarbeiter (42) fanden, daß Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III nach einer Fettbelastung Chylomikronen normaler Zusammensetzung bilden, die nach mehreren Stunden in cholesterinreiche Partikel umgewandelt waren; der weitere Abbau dieser cholesterinreichen Chylomikronen - "Remnants" lief jedoch verzögert ab. Dadurch kommt es zum Auftreten von Chylomikronen (eigentlich Chylomikronen - "Remnants") im Nüchternplasma. Weitere diätetische Manipulationen zeigten, daß der Abbau von VLDL zu LDL ebenfalls auf der Stufe der intermediären Partikel blockiert bzw. verzögert war. Es kommt also sowohl zur Akkumulation von cholesterinreichen Chylomikronen -, als auch von cholesterinreichen VLDL-"remnants" !
Havel und Kane (36) zeigten, daß auch der Proteinanteil der triglyzeridreichen Lipoproteine (VLDL und Chylomikronen) bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III quantitativ verändert ist: Sie weisen einen hohen Gehalt an sog. argininreichem Protein Apo E

auf und enthalten nur noch wenig Apo C. Dieser Befund spricht ebenfalls für die Hypothese vom Block im Abbau der "Remnants", da Apo C im ersten Abbauschritt von den VLDL auf die HDL transferiert wird.

Nach den Beschreibungen von Shore und Shore (86) existiert das argininreiche Protein in den VLDL in drei polymorphen Formen. Utermann (88) isolierte dieses argininreiche Protein aus den VLDL und fand, daß es sich von Apo B und Apo C der VLDL, ebenso von Apo A und Apo D aus anderen Lipoproteingruppen im Molekulargewicht, in der Aminosäurezusammensetzung, im Fokusierverhalten und im immunologischen Reaktionsverhalten unterschied. Er nannte dieses Protein entsprechend der Nomenklatur von Alaupovic Apoprotein E. Bei der isoelektrischen Fokusierung in Polyacrylamidgel zeigte Apo E drei scharf getrennte Banden, die nach steigendem isoelektrischem Punkt als Apo EI (I.P. 5,5), Apo EII (I.P. 5,6) und Apo EIII (I.P. 5,7) bezeichnet wurden und deren Bandenstärken sich ungefähr wie 2 : 1 : 2 verhielten.
Anschließende Untersuchungen, die Utermann und Mitarbeiter (93) bei 15 gesicherten Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III durchführten, zeigten ein konstantes Fehlen des EIII-Polypeptids bei relativ stärkerer EII-Bande in den VLDL dieser Probanden. Sie nannten diese Erscheinung EIII-Defizienz (EIII-deficiency). Bei Kontrolluntersuchungen von Patienten mit anderen Hyperlipoproteinämieformen und von Normalpersonen konnte eine EIII-Defizienz nicht nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich, daß EIII normalerweise bereits in den neu sezermierten prä-β-VLDL vorkommt.

Stoffwechseluntersuchungen ergaben weiterhin, daß sich die EIII-Defizienz bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III unter verschiedenen metabolischen Bedingungen konstant nachweisen läßt (89).
Aus diesen Untersuchungen schloß Utermann, daß die EIII-Defizienz der Grund für den defekten Abbau der triglyzeridreichen Lipoproteine sein kann, weil mit Apo EIII eventuell ein Erkennungsfaktor fehlt, der zur Bindung der cholesterinreichen "Remnants" an Leberzellenrezeptoren notwendig ist (89). Dadurch könnte der Block im Abbau erklärt werden.
Diese Hypothese steht mit kinetischen Untersuchungen von Hazzard und Biermann (39) im Einklang.

1.2.3. Definition und Diagnose

Bisher existiert noch keine allgemein anerkannte Definition der Hyperlipoproteinämie Typ III. Mit dem Nachweis der als "β-VLDL" oder "floating-β" bezeichneten Fraktion bei Typ III-Patienten glaubte man, einen spezifischen qualitativen Marker gefunden zu haben. Bald zeigte sich jedoch, daß eine β-VLDL-Fraktion auch bei anderen Hyperlipoproteinämien auftreten kann (25, 41).
Deshalb begann man, nach anderen Kriterien zur Abgrenzung der Hyperlipoproteinämie Typ III zu suchen:
Ein quantitatives Kriterium zur Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III schlugen Hazzard und Mitarbeiter 1972 vor. Ein Quotient aus Triglyzeridgehalt und Cholesteringehalt in den VLDL größer als 0,42 sollte Beweiskraft für Typ III besitzen (43).

1975 schlugen Fredrickson und Mitarbeiter ein weiteres lipidchemisches Kriterium zur Abgrenzung der Hyperlipoproteinämie Typ III vor, das ebenfalls dem hohen Cholesteringehalt der VLDL bei Typ III-Patienten Rechnung trug: Das Verhältnis von indirekt bestimmtem Cholesteringehalt in den VLDL zum Serumtriglyzeridgehalt (sog. r-Wert = Ch/TG total) größer als 0,3 sollte Typ III beweisen. Ein r-Wert zwischen 0,25 und 0,3 war möglicherweise eine Hyperlipoproteinämie Typ III (possible type III) und r-Werte kleiner als 0,25 schlossen Typ III aus. Der Quotient ist anwendbar, wenn die Serumtriglyzeride zwischen 150 und 1000 mg/100 ml liegen (25).
Im gleichen Jahr schlugen Mishkel und Mitarbeiter zwei quantitative Kriterien vor, deren diagnostische Sicherheit für die Abgrenzung des Typ III von anderen Hyperlipoproteinämieformen größer als 90 % sein sollte. (Der Überstand entspricht der Serumfraktion mit einer Dichte d $<$ 1,006 g/ml):

1. Quotient: Überstand - Cholesteringehalt/
   Überstand - Triglyzeridgehalt $\geqslant$ 0,35
2. Quotient: Überstand - Cholesteringehalt/
   Plasma - Triglyzeridgehalt $\geqslant$ 0,25

Diese Quotienten sollten sowohl bei exzessiv hohen als auch bei durch Therapie gesenkten Lipidwerten aussagekräftig sein (63).
Ein weiterer Index (III-index), von Vessby vorgeschlagen, versuchte, den hohen VLDL-Cholesterin- und den hohen LDL-Triglyzeridgehalt bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III diagnostisch zu verwerten. Da der Autor jedoch keine hohe Spezifität für diesen Index fand, schlug er eine Kombination von Kriterien (u.a. auch Nachweis von β-VLDL) zur Diagnose vor (96).

Patsch und Mitarbeiter isolierten aus dem Dichtebereich d $<$1,063 bei Typ III-Patienten außer Chylomikronen, VLDL und LDL ein sogenanntes Lipoprotein III (LP III), das mit seinen physikochemischen Eigenschaften zwischen VLDL und LDL liegt und für Typ III charakteristisch sein sollte (68, 70).

Für alle bisher erwähnten Diagnoseverfahren war eine Ultrazentrifugenaufarbeitung unumgänglich. Es wurden jedoch auch Verfahren zur Diagnose ohne Ultrazentrifuge entwickelt.
Auf immunologischer Basis versuchten Seidel und Greten (84), die Hyperlipoproteinämie Typ III ohne Ultrazentrifugation zu diagnostizieren, jedoch beruht dieses Verfahren, wie auch die von Wieland und Seidel (100) vorgeschlagene Präzipitationsmethode auf dem Nachweis der wenig spezifischen β-VLDL.
Godolphin und Mitarbeiter fanden bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III nach isoelektrischer Fokusierung von Plasma (-Lipoproteinen) in Polyacrylamidgelen eine charakteristische Bande bei pH 5,44 (29).
Shepherd isolierte mit Hilfe einer Agarosesäule bei Typ III-Patienten eine Lipoproteinfraktion aus dem Plasma, die in Bezug auf Dichte und chemische Zusammensetzung zwischen VLDL und LDL lag (85).
Masket und Mitarbeiter schlugen die gleichzeitige Elektrophorese von Plasma in Polyacrylamidgel und auf Papier (oder Agarosegel) vor. Dabei sollten im Plasma von Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III bei der Polyacrylamidgelelektrophorese keine Lipoproteine

in der β-Position (LDL) sich befinden, jedoch in der Papier- bzw. Agarosegelelektrophorese nachweisbar sein. Die Sicherheit dieser Methode für die Diagnose Hyperlipoproteinämie Typ III sollte 90 % betragen (59).
Neuere Untersuchungen kommen jedoch zu dem Ergebnis, daß auch diese Methode nicht wirkungsvoll die Diagnose HLP - "Typ III" zu stellen vermag.(4)
Kushwaha und Mitarbeiter halten eine Apolipoprotein E-Konzentration größer als 40 mg/dl im Serum gemessen durch radiale Immundiffusion als diagnostisch beweisend für HLP Typ III (53).
Mit dem Nachweis der EIII-Defizienz bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III fand Utermann einen qualitativen Marker zur Diagnose dieser Krankheit. Dieser Marker erlaubt eine einfache Differenzierung der primären von sekundären Formen der Hyperlipoproteinämien Typ III und eine Diagnose auch bei nicht nüchternen Patienten (89, 93).

1.2.4. Erbgang

Die Diskussion des Vererbungsmodus der Hyperlipoproteinämie Typ III wird durch verschiedene Faktoren kompliziert. Zum einen läßt sich diese Fettstoffwechselstörung noch nicht oder nur selten bei Kindern nachweisen, da sie in diesem Alter in der Regel noch nicht ausgeprägt ist (26, 28). Zum anderen werden Untersucher durch die Tat-

sache irritiert, daß die Hyperlipoproteinämie Typ III überdurchschnittlich oft zusammen mit anderen Typen von Hyperlipoproteinämien in der gleichen Familie vorkommt. So fanden Morganroth und Mitarbeiter unter Verwandten ersten Grades von Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III bei 16 % eine Hyperlipoproteinämie Typ IV und bei 5 % einen Typ II (64). Fredrickson schloß bereits 1967 einen Zusammenhang zwischen den Hyperlipoproteinämien Typ III und Typ II aus. Arbeiten, die ein gemeinsames Vorkommen von Typ II und Typ III in einer Familie beschreiben, (54, 57) berichten daher wohl über ein zufälliges Zusammentreffen der beiden Typen.
Mehr Bedeutung maß man jedoch dem Typ IV zu, dessen häufiges Auftreten in Familien mit Hyperlipoproteinämie Typ III verschieden interpretiert wurde. Fredrickson nahm ursprünglich einen autosomal rezessiven Erbgang für die HLP TypIII an, wobei Personen, die heterozygot für Typ III sind, manchmal ein Typ IV - Muster aufweisen könnten (23).
Mathews kam zu dem Ergebnis, Typ III- und Typ IV-Hyperlipoproteinämien seien verschiedene Phänotypen ein und desselben mutierten Gens, der Erbgang sei autosomal dominant (60). Diese Überlegungen schienen sich durch Untersuchungen von Vessby und Carlson zu bestätigen, die durch diätetische Manipulationen eine Hyperlipoproteinämie Typ III in einen Typ IV überführen konnten. Sie meinten daher, daß je nach der Ernährungslage der Stoffwechseldefekt bei der Hyperlipoproteinämie Typ III entweder als Typ III oder als Typ IV - Muster ausgeprägt sei (97, 98). Auch Glueck beschrieb eine Familie, in der Typ III und Typ IV gemeinsam vorkamen und schloß aus der An-

nahme, Typ III und Typ IV seien verschiedene Manifestationen ein und desselben mutierten Gens auf einen dominanten Erbgang (26). Einen ebenfalls autosomal dominanten Vererbungsmodus der Hyperlipoproteinämie Typ III forderten Hazzard und Mitarbeiter nach der Untersuchung von 108 Mitgliedern einer Familie mit Hyperlipoproteinämie Typ III. Sie diskutierten Typ III und Typ IV als mögliche Ausdrucksformen ein und desselben Gendefekts, lassen die Möglichkeit jedoch offen, wonach beide Krankheiten eigenständige durch nicht allele Gene bedingte monogene Fettstoffwechselstörungen sein könnten (40).
Als weitere Vererbungsmöglichkeiten diskutierten Fredrickson und Levy, daß die Hyperlipoproteinämie Typ III durch zwei oder mehr verschiedene, nicht allele mutierte Gene (mixed heterocygocity) hervorgerufen wird (22).
Schließlich stand auch ein polygener Erbgang zur Diskussion (65).
Familienuntersuchungen, die Utermann bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III vornahm, sprachen für einen rezessiven Erbgang dieser Fettstoffwechselstörung. Dabei fand er neben der fehlenden bzw. schwach ausgeprägten Apo EIII-Bande in der VLDL bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III zwei weitere Gruppen von Individuen mit verschiedenen Apo E-Mustern: Eine Gruppe, bei der das Verhältnis von EII/EIII ungefähr 0,4 betrug und eine weitere Gruppe, bei der dieses Verhältnis ungefähr bei 1,0 liegt. Alle Eltern und alle Kinder (bis auf eine Ausnahme s. u.) von Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III zeigten das quantitativ intermediäre

Apo E-Muster mit ungefähr gleichstarken Apo EII- und EIII-Banden.
Aus Familienuntersuchungen entwickelten Utermann und Mitarbeiter die Hypothese, daß diesen Apo E-Mustern ein genetisch bedingter Polymorphismus zugrunde liegt mit den Phänotypen Apo E-N (EII/EIII ≈ 0,4), Apo E-ND (EII/EIII = 1) und Apo E-D (EIII stark erniedigt bzw. fehlend).
Untersuchungen bei Blutspendern (44) ergaben die Häufigkeiten der drei Apo E-Phänotypen mit 83,3 % für den Phänotyp Apo E-N, 15,7 % für den Phänotyp Apo E-ND und 1 % für den Phänotyp Apo E-D.
Alle Individuen des Phänotyps Apo E-D zeigten eine für"Broad-β-disease" charakteristische Dysbetalipoproteinämie mit erhöhter, cholesterinreicher VLDL-Konzentration, einem β-VLDL-Muster in der Lipideletrophorese und einer erniedrigten LDL_2-Konzentration. Eine Hyperlipidämie wurde bei diesen Probanden jedoch selten beobachtet.

1.2.5 Häufigkeit

Die Häufigkeit der Hyperlipoproteinämie Typ III wird nicht zuletzt wegen der verschiedenen Diagnosekriterien unterschiedlich angegeben. Allgemein betrachtet man diese Fettstoffwechselstörung als eine seltene Erkrankung.
Die Häufigkeit der Hyperlipoproteinämie Typ III in einer hyperlipämischen Gruppe wurde von Huth und Mitarbeitern (50) mit 32 pro 1000 und von Reimers und Mitarbeitern (75) mit 23 pro 1000 angegeben. Schneider und Mitarbeiter fanden 2 Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III unter 4000 poliklinischen Patienten (1 : 2000) (82).

Hazzard und Mitarbeiter (40) schätzten die Frequènz der Hyperlipoproteinämie Typ III in der Bevölkerung auf 0,1 - 0,4 pro 1000 durch Extrapolation ihrer Daten aus der Herzinfarktstudie (32).
Mishkel fand eine Frequenz von 1 : 1000 Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III in einer Bevölkerungsstichprobe (63).

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Fragestellung der Arbeit

Auf der Basis des Apo E-Markers entwickelten Utermann und Hees (37, 60) eine Methode, die die Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III ohne Ultrazentrifuge ermöglichen soll. Diese Methode verbindet die Fällung der VLDL mit Heparin-Magnesium, Lipidextraktion und isoelektrische Fokusierung der harnstofflöslichen Apo-VLDL zur Darstellung der Apo E-Phänotypen. Hiervon ausgehend sollten in der vorliegenden Arbeit die folgenden Probleme bearbeitet werden:

I Die durch die Heparin-Magnesium-Fällung gewonnenen Ergebnisse sollten mit Standard-Methoden (Ultrazentrifugation) abgesichert und damit ein Vergleich der Methoden ermöglicht werden.

II In einem weiteren Schritt der Arbeit sollte die Stabilität der Apo E-Phänotypen unter verschiedenen Bedingungen geprüft werden.

III Die formale Genetik der Apo E-Polymorphismen sollte durch umfangreiche Familienuntersuchungen abgesichert werden.

IV Durch vergleichende lipidchemische Untersuchungen von Individuen der Phänotypen Apo E-N und Apo E-ND sollte geprüft werden, ob sich die beiden phänotypischen Gruppen metabolisch unterscheiden.

2.2. Material und Methoden

2.2.1. Probanden

Alle erreichbaren Probanden mit einem Phänotyp Apo E-ND, die M. Hees (44) durch eine Untersuchung bei 490 Blutspendern fand, wurden nüchtern einbestellt. Nach der Blutentnahme wurden die Probanden besonders im Hinblick auf Lipidablagerungen in der Haut untersucht. Eine gezielte Anamnese sollte Krankheiten herausfinden, die mit einer sekundären Hyperlipidämie einhergehen können (z.B. Diabetes mellitus, Alkoholabusus, Hypothyreose, Gicht, Nierenerkrankungen). Zur Zeit der Blutentnahme eingenommene Medikamente wurden erfragt.
Die Ausgangsgruppe (Apo E-ND) umfaßte 43 männliche und 10 weibliche Probanden. Als Kontrollgruppe dienten 53 willkürlich ausgewählte Blutspender des Phänotyps Apo E-N. Dabei wurde so vorgegangen, daß für jeden Probanden des Phänotyps Apo E-ND eine Kontrollperson gleichen Alters und gleichen Geschlechts gesucht wurde.

2.2.2. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte morgens nüchtern durch Punktion einer geeigneten Armvene. Es wurden keine Antikoagulantien zugesetzt. Nach Gerinnung bei Zimmertemperatur wurde das Serum durch 5 min. Zentrifugation in einer Laborzentrifuge bei 4000 U/min. gewonnen und bei 4° C aufbewahrt.

Die Seren von Eltern der Probanden wurden in der gleichen Weise von den jeweiligen Hausärzten entnommen und mir durch Eilpost zugesandt. Umfaßte die Untersuchung in einer Familie mehr Personen als die Eltern der Probanden, dann wurden die Familienmitglieder nach Möglichkeit zur Blutentnahme persönlich aufgesucht.

2.2.3. Gewinnung der VLDL-Apoproteine

a) Isolierung der Apo-VLDL mit der Ultrazentrifuge (35)
Die Isolierung der VLDL erfolgte mit einer präparativen Beckman-Ultrazentrifuge Modell Spinco - L 2 - 65 B mit dem 40.3-Rotor bei 40 000 U/min.
Zunächst wurde das Serum bei Eigendichte (d = 1,006 g/ml) 22 Stunden bei 4° C zentrifugiert und die VLDL danach als Flotat entnommen. Die quantitative Bestimmung der Lipide und die Anfertigung einer Lipidelektrophorese erfolgten nach diesem ersten Flotationsvorgang. Zur Präparation der Apoproteine wurden die VLDL durch Rezentrifugation unter gleichen Bedingungen gereinigt.
Die Extraktion der Lipide aus der VLDL erfolgte durch Eintropfen in ein 15 mal größeres Volumen eines Aceton-Aethanolgemisches 1 : 1 (V : V) bei - 15° C. Die Proteine wurden durch Zentrifugation in einer Laborzentrifuge (10 min. bei 4000 U/min. sedimentiert und der Überstand dekantiert. Die Apo-VLDL wurden anschließend noch 4 mal in einem Aceton-Aethanolgemisch ge-

waschen und an der Luft getrocknet.

b) Isolierung der Apo-VLDL durch Fällung mit Heparin-Magnesium (92)
Zu 1 ml Serum in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß wurden 50 µl 5prozentiges Heparin (Fa. Hoffman-La Roche, Grenzach/Baden) und 50 µl 2 m $MgCl_2$ gegeben, was eine Konzentration von 0,23 % Heparin und 0,09mMg^{++} ergab. Nach zweiminütigem Durchmischen und einer Reaktionszeit von 30 min. bei Zimmertemperatur wurde 6 min. in einer Eppendorf-Zentrifuge (Fa. Eppendorf, Hamburg) zentrifugiert. Dabei flotierten die VLDL und bildeten eine weiße Schicht auf der Oberfläche. Der Unterstand wurde vorsichtig mit einer Spritze abgesaugt, das Flotat in 0,5 ml 0,02 m Tris-HCl 0,1 m NaCl 0,017 m Natriumcitrat pH 7,7 aufgenommen, zwei Minuten geschüttelt und durch Zusatz von 0,025 ml 2 m $MgCl_2$ erneut ausgefällt. Nach 30 min. Stehen bei Zimmertemperatur wurde wieder 6 min. zentrifugiert, der Unterstand erneut abgesaugt und der Waschvorgang mit dem Flotat noch einmal wiederholt.
Zum Delipifizieren wurden zum Überstand zunächst 0,75 ml eines Chloroform-Methanolgemisches 2 : 1 (V : V) pipettiert, 10 min. durchmischt und danach noch 0,25 ml Methanol zugesetzt. Nach kurzem Schütteln wurde 4 min. mit der Eppendorf-Zentrifuge zentrifugiert und der Überstand über den sedimentierten VLDL-Apo-Proteinen abgesaugt. Der Delipifiziervorgang wurde einmal wiederholt, die Apoproteine hinterher an der Luft trocknen gelassen.

2.2.4. Analytische isoelektrische Fokusierung in Polyacrylamidgelen

Die durch die in 2.2.3. a) bzw. 2.2.3. b) beschriebenen Methoden gewonnenen Apoproteine aus den VLDL wurden in 200 µl 8 m Harnstoff-Äthylmorpholin pH 8,5 gelöst und mit der Gellösung gemischt. Die Gellösung enthielt 7,5 % Acrylamid und 0,2 % Bisacrylamid, 6 m Harnstoff und 2 % Ampholine (LKB-Produkter Bromma, Schweden). Die Polymerisation in 7,5 x 0,5 cm Glasröhrchen wurde durch Zusatz von 0,1 ml Ammoniumpersulfat (70 mg/ml) und 10 µl Tetramethyläthylendiamin (5 %) zu 10 ml Gellösung initiiert. Die Fokusierung erfolgte dann bei 4° C mit 1,5 % ortho-Phosphorsäure an der Kathode und 2,5 % Aethylendiamin an der Anode über 16 Stunden konstant bei 150 Volt.
Nach der Fokusierung wurden durch zweistündiges Waschen der Gele in 5 % TCA - 5 % Sulfosalizylsäure die Proteine fixiert und die Ampholine ausgewaschen. Anschließend wurden die Proteine mit 0,1 % Coomassiebrilliant-blue in Eisessig-Aethanol-Wassergemisch (10 : 45 : 45) (V : V) zwei Stunden gefärbt. Danach wurden die Gele in einem Eisessig-Aethanol-Wassergemisch (10 : 25 : 65) (V : V) entfärbt und in 7,5 % Essigsäure aufbewahrt.

2.2.5. Lipidelektrophoresen (61)

Die Lipidelektrophoresen wurden in Agarose-Gel auf 12 x 9 cm großen Glasplatten ausgeführt. Zu 100 ml Barbital-Veronalpuffer pH 8,6 (0,025 µ) wurden 0,83 Agarose (Behringwerke Marburg/L) gegeben und im Wasserbad bei 100° C gekocht, bis die Lösung klar wurde. Nach Abkühlen auf 50° C wurden

0,3 g Rinderalbumin (Behringwerke Marburg/L) unter Schütteln zugegeben und je 15,6 ml der Lösung auf eine Platte gegossen. Danach wurden die Platten bei 4° C in einer feuchten Kammer gelagert. In Ausstanzungen wurde ein Gemisch aus 50 µl Serum (bzw. VLDL) und 50 µl Agaroselösung gefüllt. Als Markierung wurde ein Gemisch aus Normalserum und Bromphenolblau 1 : 1 (V : V) verwandt. Die Elektrophorese wurde bei 220 Volt (konstant) ausgeführt, bis die Markierung 5 cm weit gewandert war. Nach zweistündiger Fixation in Methanol-Aethanol-Eisessig-Wasser 47,5 : 3 : 5 : 47,5 (V : V) und anschließendem Trocknen wurde zwei Stunden lang in 0,1 % Sudanschwarz B, 1 % Zinkacetat, 60 % Aethanol gefärbt. Die überflüssige Farbe wurde dann mit 60 % Aethanol herausgewaschen.

2.2.6. Triglyzeridbestimmung (20)

Die Triglyzeride wurden mit der "Testkombination Triglyzeride" vollenzymatisch (Fa. Boehringer, Mannheim) bestimmt.

2.2.7. Cholesterinbestimmung

Das Gesamtcholesterin wurde nach der Methode von Roeschlau et. al. (76) bestimmt. Dabei wurde der enzymatische Farbtest "Testkombination Cholesterin" (Fa. Boehringer, Mannheim) nach der mitgegebenen Vorschrift verwandt.

2.2.8. Quotient aus VLDL-Cholesterin- und Serum-Triglyzeridgehalt (r-Wert)

Der von Fredrickson und Mitarbeitern (25) eingeführte r-Wert zur Diagnostik der Hyperlipoproteinämie Typ III

($r \geqslant 0,3$) wurde von den Autoren als Quotient aus indirekt gemessenem VLDL-Cholesteringehalt und Serumtriglyzeridgehalt angegeben. Bei den hier vorgenommenen Berechnungen wurde der r - Wert dadurch modifiziert, daß der VLDL-Cholesteringehalt als Mittelwert aus direkt und indirekt bestimmtem VLDL-Cholesteringehalt angenommen wurden.
Alle VLDL-Cholesterinwerte sind Mittelwerte aus direkt und indirekt bestimmtem VLDL-Cholesteringehalt. Die VLDL-Triglyzeride sind direkt bestimmte Werte.

2.2.9. Densitometrische Messungen

Alle densitometrische Messungen wurden mit einem Camag-Elektrophoresescanner (Muttenz, Schweiz) ausgeführt.

2.2.10. Statistische Methoden (79)

Als statistische Prüfverfahren dienten der U-Test nach Wilcoxon u. Mann, der Bartlett-Test und die lineare Regression.

2.3. Ergebnisse

2.3.1. Vergleich der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode mit der Ultrazentrifugenaufarbeitung

Bei 168 Personen wurden die VLDL-Apoproteine parallel mit Hilfe der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode sowie mit Hilfe der Ultrazentrifuge isoliert, in der isoelektrischen Fokusierung dargestellt und das Verhältnis der Bandenstärken von Apo EII und Apo EIII densitometrisch gemessen (s. Abb. 2 u. 3). Die Gruppe von Personen mit dem Phänotyp Apo E-D war sehr klein; daher wurden Individuen dieses Phänotyps in die Analyse eingeschlossen, bei denen entweder nur ein Ergebnis der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode (n = 4) oder der Ultrazentrifugenmethode (n = 6) vorlag, aber keine parallele Untersuchung erfolgt war.

Da es sich bei den Meßwerten um Quotienten von zufallsverteilten Ausgangswerten handelt, konnte man eine logarithmische Verteilung annehmen. Zur Abgrenzung der Phänotypen wurden nach einem gängigen mathematischen Schätzverfahren die Werte so in drei Gruppen geteilt, daß die Summen der Abstandsquadrate der Logarithmen der Quotienten minimiert wurden (Methode der kleinsten Quadrate).

Nach Heparin-Magnesium-Fällung und isoelektrischer Fokusierung ergaben sich dabei folgende drei Gruppen, deren Trennungspunkte mit EII/EIII = 0,568 zwischen Apo E-N und Apo E-ND und mit EII/EIII = 2,944 zwischen Apo E-ND und Apo E-D bestimmt wurden (s. Tab. III).

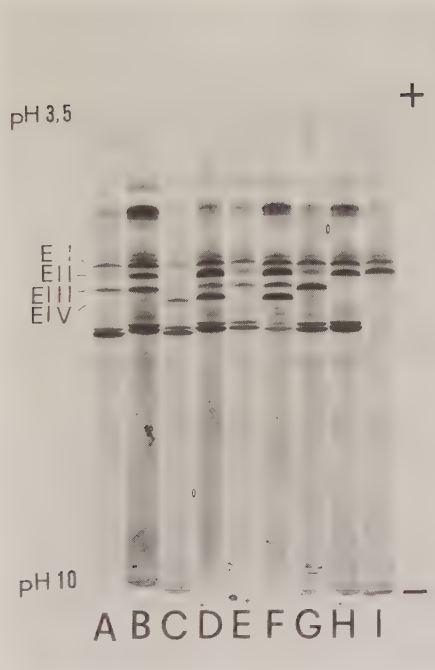


Abb. 2 Analytische isoelektrische Fokusierung in Polyacrylamidgelen (pH-Gradient von 3,5 bis 10) von harnstofflöslicher Apo-VLDL von Individuen der Phänotypen Apo E-N (A, CG), Apo E-D (BDEF) und Apo E-D (HI). Färbung: Coomassie Brillant-Blau

a)

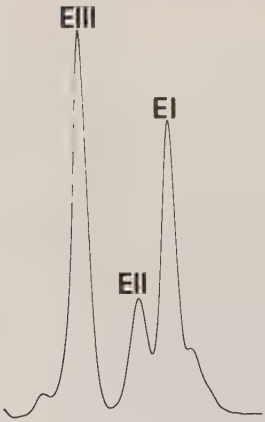
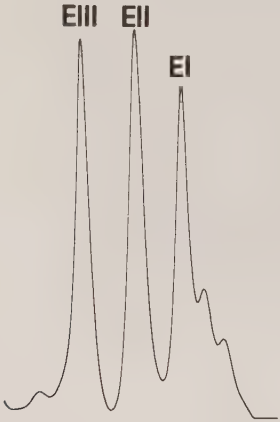


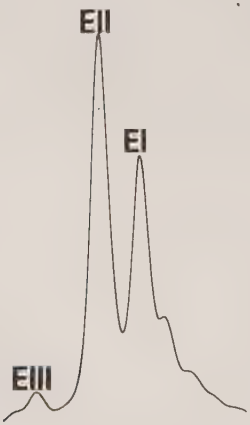
Abb. 3
Densitometrische Auswertung der Apo E-Region repräsentativer Gele der Phänotypen:
a) Apo E-N

b)



b) Apo E-ND

c)



c) Apo E-D

Gruppe	Anzahl	Bereiche von EII/EIII bzw. ln (EII/EIII)	Phäno-typ
1	88	EII/EIII $\leq$ 0,521 ln (EII/EIII) $\leq$ -0,651	Apo E-N
2	76	0,618 $\leq$ EII/EIII $\leq$ 2,523 -0,480 $\leq$ ln (EII/EIII) $\leq$ +0,925	Apo E-ND
3	8	3,441 $\leq$ EII/EIII +1,235 $\leq$ ln (EII/EIII)	Apo E-D
Mittlerer Trennpunkt zwischen Gruppe 1 u. 2: EII/EIII=0,568 Mittlerer Trennpunkt zwischen Gruppe 2 u. 3: EII/EIII=2,944			

Tab. III Charakterisierung der phänotypischen Gruppen mit ihren Trennpunkten: Heparin-Magnesium-Fällungsmethode

Nach Ultrazentrifungenaufarbeitung und isoelektrischer Fokusierung ergaben sich die in Tab. IV dargestellten abweichenden Trennungspunkte

Gruppe	Anzahl	Bereiche von EII/EIII bzw. ln (EII/EIII)	Phäno-typ
1	89	EII/EIII $\leq$ 0,698 ln (EII/EIII) $\leq$ -0,358	Apo E-N
2	75	0,721 $\leq$ EII/EIII $\leq$ 2,287 -0,326 $\leq$ ln (EII/EIII) $\leq$ 0,827	Apo E-ND
3	10	3,818 $\leq$ EII/EIII 1,339 $\leq$ ln (EII/EIII)	Apo E-D
Mittlerer Trennpunkt zwischen Gruppe 1 u. 2: EII/EIII=0,710 Mittlerer Trennpunkt zwischen Gruppe 2 u. 3: EII/EIII=2,953			

Tab. IV Charakterisierung der phänotypischen Gruppen mit ihren Trennpunkten: Ultrazentrifugations-methode

Mit einer Ausnahme wurden alle Individuen mit beiden Methoden dem gleichen Phänotyp zugeordnet. Diese Ausnahme bildet ein Proband, der nach der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode klar in die zweite Gruppe fällt, jedoch nach der Ultrazentrifugenaufarbeitung noch zur ersten Gruppe zu zählen ist. Das Apo E-Verhältnis bei diesem Probanden bildet jedoch den oberen Extremwert der Gruppe Apo E-N. Familienuntersuchungen (s. später Abb. 6, Fam. Ba II_1) zeigen, daß dieser Proband obligat heterozygot ist.

Da die Homogenität der Varianzen der logarithmierten Quotienten für die einzelnen der drei Gruppen nicht gegeben ist, (der Bartlett-Test brachte ein hochsignifikantes Ergebnis) und zudem die geringe Größe der dritten Gruppe zuverlässige Schätzungen erschwert, konnten keine weitere statistische Aussagen über die Sicherheit der Gruppeneinteilung gemacht werden. Wenn es über den genetischen Einfluß hinaus keine gruppenabhängigen Einflüsse auf die Höhe des Quotienten EII : EIII gibt, müßte man von einer Homogenität der Varianzen der einzelnen Gruppen ausgehen. Da die Inhomogenität der Varianzen bereits daraus erklärt werden kann, daß die Meßungenauigkeit des Quotienten beim Phänotyp Apo E-D wegen des kleinen bzw. nicht nachweisbaren Apoproteins EIII größer als bei den beiden anderen Gruppen ist, kann nicht geschlossen werden, daß diese Varianzinhomogenität durch unentdeckte gruppenabhängige Einflußgrößen hervorgerufen wird.

Die mit beiden Methoden ermittelten Quotienten EII/EIII und die Zuordnung zu den durch die optimalen Trennungspunkte festgelegten Gruppen zeigt Abb. 4. Auffällig zeigt sich der höhere Trennpunkt zwischen der Gruppe 1 und der Gruppe 2 bei der Ultrazentrifugenmethode gegenüber der Heparin-Magnesium-Fällung.

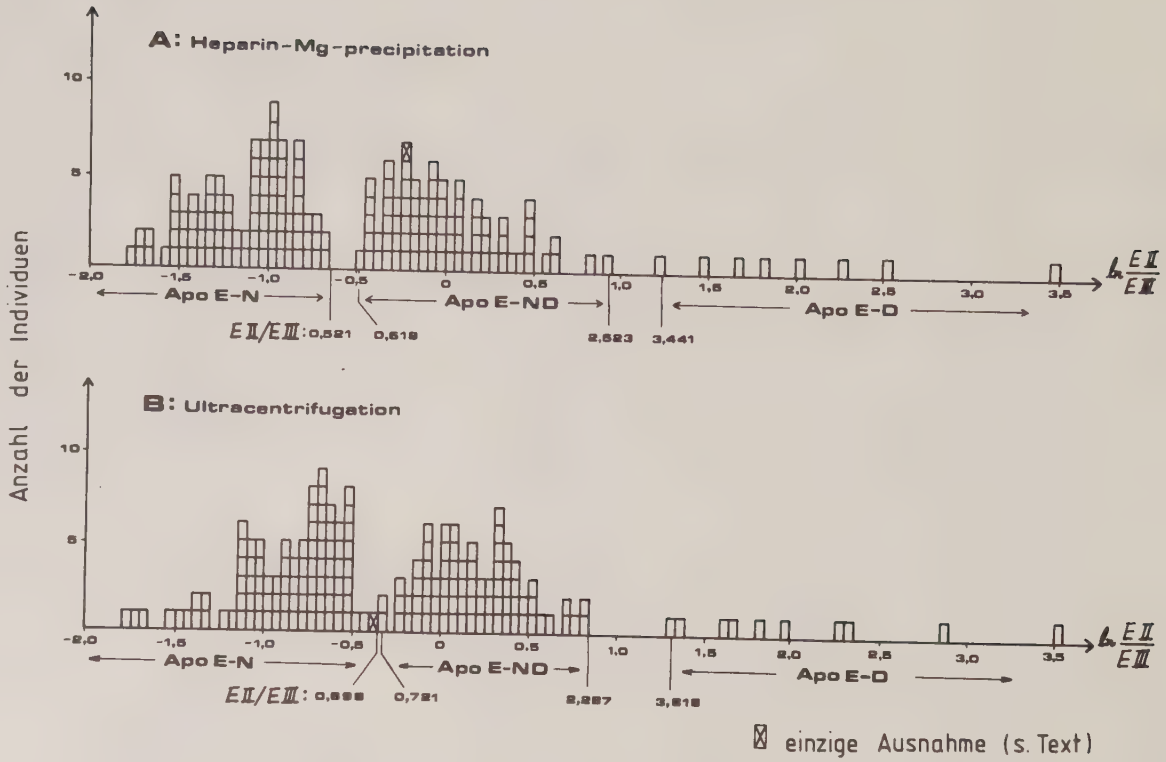


Abb. 4 Vergleich der beiden Methoden (A) Heparin-Magnesium-Fällung und (B) Ultrazentrifugation zur Differenzierung der Apo E-Phänotypen

Bei 490 Blutspendern hatte M. Hees (37) 408 Probanden vom Phänotyp Apo E-N, 77 vom Phänotyp Apo E-ND und 5 vom Phänotyp Apo E-D mit Hilfe der Heparin-Magnesium-Fällungsmethode gefunden.
Verglichen hiermit wurde die Verteilung der Apo E-Muster bei Nachuntersuchung mit Hilfe der Ultrazentrifugenmethode bei der initialen Gruppe des Phänotyps Apo E-ND und einer Kontrollgruppe (Phänotyp Apo E-N), sowie bei Eltern von Probanden des Phänotyps Apo E-ND und Familienmitgliedern von Probanden der Phänotypen Apo E-ND und Apo E-D (s. Abb. 5 A - D).
Alle heterozygoten Individuen des Phänotyps Apo E-ND und alle Kontrollen des Phänotyps Apo E-N wurden bei der Wiederholungsuntersuchung dem gleichen Phänotyp zugeordnet wie bei der Erstuntersuchung. Dies galt sowohl für die Wiederholung mit Hilfe der Ultrazentrifugenmethode als auch für die Heparin-Magnesium-Fällungsmethode. Bei den Eltern und Familienmitgliedern von Probanden der Phänotypen Apo E-ND und Apo E-D fand sich erwartungsgemäß mit Hilfe beider Methoden eine trimodale Verteilung der Apo E-Muster (s. auch: 2.3.3. "Formale Genetik des Apo E-Polymorphismus und der Apo EIV+Variante")

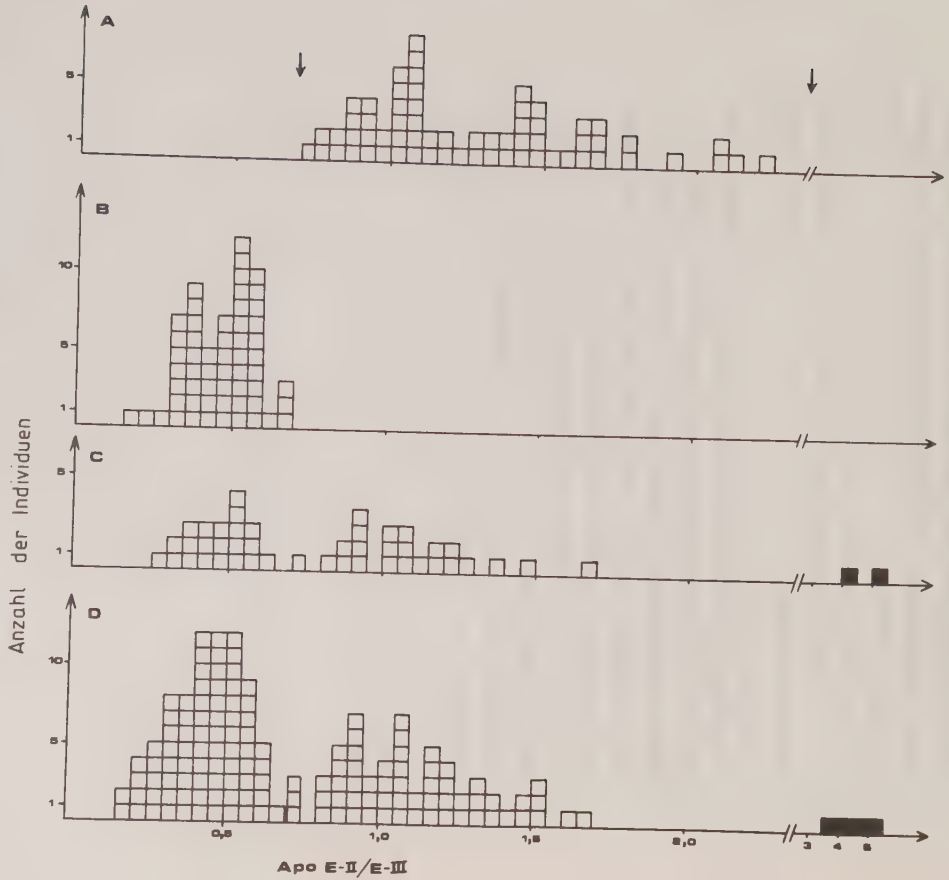


Abb. 5

A u. B: Alle durch die Heparin-Magnesium-Fällung als Apo E-ND (A) bzw. Apo E-N (B) klassifizierten Individuen konnten durch Ultrazentrifugation ebenfalls als solche eingeordnet werden.

C: Verteilung der Apo E-Phänotypen aller erreichbaren Eltern der heterozygoten Probanden aus A

D: Verteilung der Apo E-Phänotypen der Familienmitglieder von Probanden mit dem Phänotyp Apo E-ND und Apo E-D (Probanden nicht eingeschlossen)

(Pfeile bezeichnen die Gruppengrenzen)

2.3.2. Stabilität der Apo E-Phänotypen

2.3.2.1. Stabilität bei verschiedenen Stoffwechselbedingungen

Bei der von M.Hees (44) an der Blutbank durchgeführten Untersuchung waren die Blutspender nicht nüchtern. Zur Überprüfung der dabei erhaltenen Apo E-Muster wurden je 53 der als Phänotyp Apo E-N bzw. Apo E-ND charakterisierten Probanden nüchtern nachuntersucht. Dabei zeigte sich in allen Fällen wiederum das vorher bestimmte Muster.

2.3.2.2. Stabilität der Apo E-Phänotypen über einen längeren Zeitraum

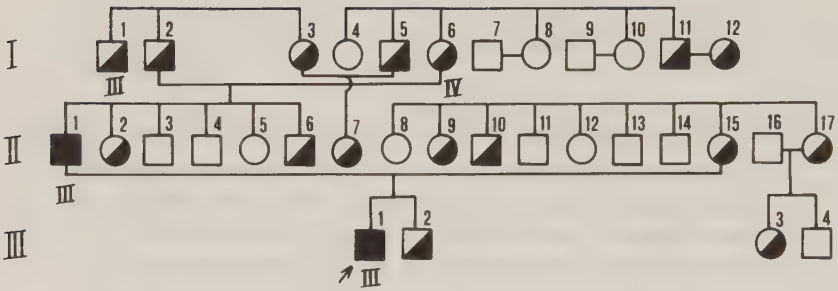
Die Wiederholung der Bestimmung der Apo E-Phänotypen erfolgte im Durchschnitt nach einem halben Jahr. Danach wurden von 3 Probanden des Phänotyps Apo E-D, 21 Probanden des Phänotyps Apo E-ND und 15 Probanden vom Phänotyp Apo E-N ein weiteres Mal nach 6 Monaten die Apo E-Muster bestimmt. Während dieser Zeiträume konnte keine Abweichung in Form einer Änderung im Phänotyp bei den untersuchten Probanden beobachtet werden.

2.3.3. Formale Genetik des Apo E-Polymorphismus und der Apo E-IV+Variante

2.3.3.1. Apo E-Polymorphismus

Durch Familienuntersuchungen sollte die Annahme gestützt werden, daß die Apo E-Muster einen genetisch bedingten Polymorphismus zweier alleler Gene Apo E^n und Apo E^d darstellen, wobei Individuen des Phänotyps Apo E-N homozygot für das häufige Gen Apo E^n, Individuen des Phänotyps Apo E-D homozygot für das seltene Gen Apo E^d sind und Individuen des Phänotyps Apo E-ND den heterozygoten Genotyp Apo E^n/Apo E^d repräsentieren.
Untersuchungen der Familien Z. und Ba., bei denen von zwei Probanden des Phänotyps Apo E-D mit Dysbetalipoproteinämie ausgegangen wurde, stehen mit dieser Hypothese in Einklang. Ihre Stammbäume sind in Abb. 6 gezeigt. Segregationsanalysen in diesen beiden und in weiteren Familien (s. Tab. V) stimmen mit einem autosomal kodominanten Erbgang der beiden Allele Apo E^n und Apo E^d überein. Die Vererbung erfolgt unabhängig vom Geschlecht.
Alle bei den Familienuntersuchungen neu entdeckten Individuen des Phänotyps Apo E-D zeigten ebenso wie die Probanden eine Dysbetalipoproteinämie.
In mehreren Fällen wurde bei einem Individuum des Phänotyps Apo E-ND (s. Abb. 6 u. 7) das Auftreten einer für Dysbetalipoproteinämie charakteristischen "β-VLDL"beobachtet.
Damit folgt die Dysbetalipoproteinämie einem autosomal rezessiven Erbgang.

FAMILIE Z.



FAMILIE BA.

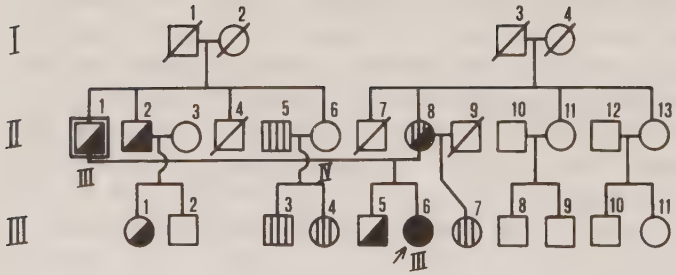
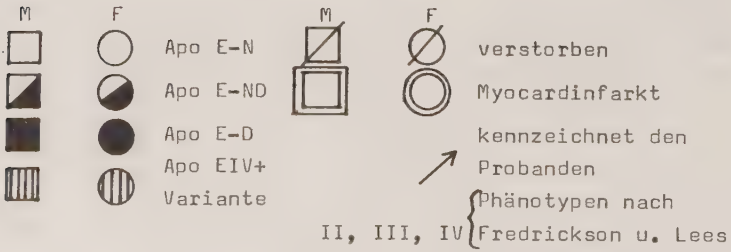


Abb. 6 Stammbäume der Familien Z. und Ba.



Kreuzung	Zahl	N	ND	D
N x N	5	8	-	-
N x ND	11	16	18	-
N x D	2	-	5	-
ND x ND	4	4	7	1
ND x D	1	-	1	1
D x D	-	-	-	-

Tab. V: Segregationsanalyse der Apo E-Phänotypen zu den untersuchten Familien (Probanden eingeschlossen)

In der Familie Z. zeigt sich jedoch ein Fall von vertikaler Transmission der Dysbetalipoproteinämie. Dies läßt zunächst einen dominanten Vererbungsmodus vermuten. Die Analyse der Apoproteine erweist jedoch, daß die Ehefrau (II-15) des homozygoten Probanden (II-1) den heterozygoten Phänotyp Apo E-ND besitzt, woraus sich das Apo E-D Muster des Kindes (III-1) erklären läßt. Der vermutete dominante Erbgang erweist sich somit als ein Fall von Pseudodominanz.
Auch Familienuntersuchungen ausgehend von Probanden des Phänotyps Apo E-ND stützen diese formale Erbgangshypothese. Von 29 Probanden des Phänotyps Apo E-ND (23 M, 6 F) wurden bei allen erreichbaren Eltern, z. T. aber auch bei einer größeren Anzahl von Familienmitgliedern (s. Abb. 7) die Apo E-Phänotypen bestimmt.

Bei 16 Probanden konnten beide Eltern untersucht werden, bei dreien war nur der Vater und bei den zehn restlichen nur die Mutter noch erreichbar.
Erwartungsgemäß konnte bei keinem Elternpaar eines Probanden des Phänotyps Apo E-ND bei beiden der Phänotyp Apo E-N nachgewiesen werden; mindestens ein Elternteil zeigte ein Apo E-ND- oder Apo E-D-Muster.

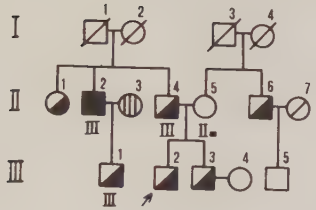
23 Eltern (6 M, 17 F) zeigten den Phänotyp Apo E-ND, und bei 20 Eltern (13 M, 7 F) wurde der Phänotyp Apo E-N beobachtet. Zwei Eltern (2 F) wiesen den Phänotyp Apo E-D auf. Dies entspricht dem aufgrund der Häufigkeit des Allels Apo E^d erwarteten Wert (s. Tab. VI).

Phänotyp der Eltern	Apo E-N	Apo E-ND	Apo E-D
gefunden	20	23	2
erwartet	18,7	24,7	1,6

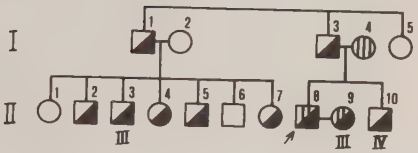
Tab. VI Verteilung der Apo E-Phänotypen bei Eltern von 29 heterozygoten (Apo E-ND) Probanden

Beim autosomal rezessiven Erbgang der primären Dysbetalipoproteinämie kommt es wegen der relativ großen Genhäufigkeit des Allels Apo E^d zum Auftreten von Pseudodominanz.

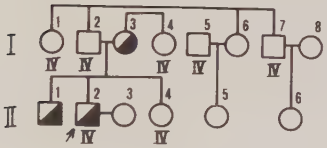
FAMILIE KÜ.



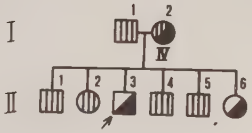
FAMILIE SA.



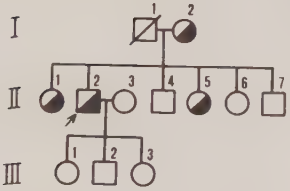
FAMILIE LE.



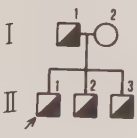
FAMILIE RI.



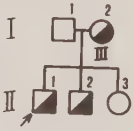
FAMILIE KO.



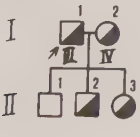
FAMILIE S.



FAMILIE SE.

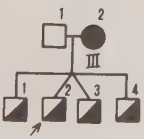


FAMILIE : E.

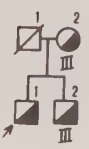


BC.

ZU.



ME.



BU.

HE.

Abb. 7 Stammbäume der übrigen Familien

2.3.3.2. Apo EIV+Variante

Die Familienuntersuchungen erlauben auch, den formalen Erbgang einer Apo E-Variante (Apo EIV+) zu klären, die bei ungefähr 27 % der Blutspender nachzuweisen war. Diese Variante zeichnet sich durch eine zusätzliche kathodische Bande (I.P. 5,75) bei isoelektrischer Fokusierung aus (s. Abb. 8 A u. B). Familienuntersuchungen zeigen, daß die beiden Phänotypen EIV+ (Individuen, die diese zusätzliche Bande besitzen) und EIV- (Individuen ohne diese zusätzliche Bande) unter genetischer Kontrolle stehen. Segregationsanalysen (s. Tab VII) lassen Kriterien für einen autosomal dominanten Erbgang der EIV+ Variante erkennen:

1) Kinder zeigen nur dann die EIV+ Variante, wenn sie bei wenigstens einem Elternteil nachweisbar ist.

2) In den sogenannten kritischen Paarungen (EIV - x EIV -) treten keine EIV+ Kinder auf.

3) Beide Geschlechter sind gleich häufig betroffen.

Abb. 8 zeigt die Darstellung des Apo EIV-Polymorphismus mit Hilfe der analytischen isoelektrischen Fokusierung.

Das Vorhandensein bzw. Fehlen der zusätzlichen Bande läßt sich als durch zwei allele Gene EIV+ und EIV- bedingt interpretieren, wobei EIV+ dominant über EIV- ist und die EIV+ Bande determiniert.

Abb. 8 A Analytische isoelektrische Fokusierung in Polyacrylamidgelen (pH-Gradient 3,5 - 10) von harnstofflöslicher Apo-VLDL von Individuen der Phänotypen:

A u. B Apo E-N (EIV+)
C u. D Apo E-ND (EIV+)

Färbung: Coomassie Brillant Blau

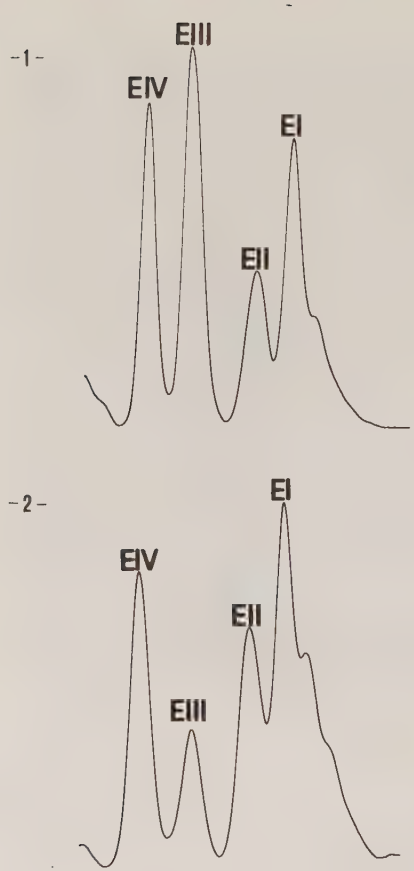


Abb. 8 B Densitometrische Auswertung der Apo E-Region repräsentativer Gele der Phänotypen

1) Apo E-N (EIV+) und
2) Apo E-ND (EIV+)

Paarungen der Eltern	Anzahl der Paarungen	Phänotyp der Kinder	
		Apo EIV (+)	Apo EIV (-)
EIV (-) x EIV (-)	17	-	48
EIV (+) x EIV (-)	5	6	3
EIV (+) x EIV (+)	2	5	2
Gesamt	24	11	53

Tab. VII Segregationsanalyse der Apo EIV Phänotypen (Probanden eingeschlossen)

Da die EIV+ - Variante nicht nur bei Individuen des Phänotyps Apo E-N, sondern auch bei Probanden mit dem Phänotyp Apo E-ND gefunden wird, müssen für die jeweils bestimmenden Allele Apo E^n und Apo E^d bzw. Apo EIV+ und Apo EIV- verschiedene unabhängige Genloci gefordert werden. Beim Phänotyp Apo E-D wurde die EIV+ Bande nicht beobachtet.
Somit besteht neben dem Apo E^n/E^d - Polymorphismus ein weiterer genetischer Polymorphismus des Apo-Lipoproteins E.

2.3.4. Vergleichende lipidchemische Untersuchungen der Phänotypen Apo E-D, Apo E-ND und Apo E-N

(Als statistisches Testverfahren für die folgenden Vergleiche wurde der U - Test gewählt, da eine Normalverteilung der Daten nicht abzusichern war.)

2.3.4.1. Vergleich der phänotypischen Gruppen Apo E-N und Apo E-D

Während der im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen Untersuchungen und der von M. Hees (44) und N. Pruin (72) durchgeführten populationsgenetischen-und Familienuntersuchungen wurden insgesamt 24 Probanden des Phänotyps Apo E-D gefunden. Diese Gruppe wurde mit einer gleichaltrigen und gleichgeschlechtlichen Gruppe vom Phänotyp Apo E-N verglichen (s. Tab. VIII). Dabei zeigten sich bei den Individuen des Phänotyps Apo E-D eine signifikante Erniedrigung des Serum-Cholesterins und signifikant erhöhte Serum-Triglyzerid-, VLDL-Triglyzerid-, VLDL-Cholesterin- und r - Werte (s. 2.2.8.) gegenüber dem Phänotyp Apo E-N.
Um zu prüfen, ob dieser hypertriglyzeridämische und hypocholesterinämische Effekt des Gens Apo E^d in allen Altersklassen nachweisbar ist, wurde getrennt für den Phänotyp Apo E-N und Apo E-D eine lineare Regression durchgeführt. Zum Erhalt einer Normalverteilung wurden die Triglyzeridwerte logarithmisch transformiert (31). Die Ergebnisse der linearen Regression sind in den Abb. 9 und 10 und in Tab. IX dargestellt.
Die bei den Individuen vom Phänotyp Apo E-D signifikant höheren Serumtriglyzeridwerte im Vergleich zum Phänotyp Apo E-N nehmen beim Phänotyp Apo E-D mit dem Alter etwas stärker zu, als bei den Kontroll-

personen. Die Korrelationskoeffizienten unterscheiden sich jedoch nicht signifikant. Bei Individuen des Phänotyps Apo E-D entwickelt sich mit fortschreitendem Alter eine milde Hypertriglyzeridämie. Die Genkonstellation Apo E^d/Apo E^d zeigt in allen Altersgruppen einen hypertriglyzeridämischen Effekt.
Die Serumcholesterinwerte, die bei Probanden des Phänotyps Apo E-D signifikant niedriger liegen als bei Individuen des Phänotyps Apo E-N, zeigen diesen Unterschied konstant über alle Altersgruppen (fast parallele Regressionsgeraden). Das Gen Apo E^d hat somit in doppelter Dosis in allen Altersgruppen einen hypocholesterinämischen Effekt.

Es wurde daher der Frage nachgegangen, ob sich der hypocholesterinämische bzw. hypertriglyzeridämische Effekt des Gens Apo E^d auch in der einfachen Dosis auswirkt, d.h. auch bei einem Vergleich der phänotypischen Gruppen Apo E-N und Apo E-ND nachgewiesen werden kann.

Parameter	Phänotyp Apo E-N m ± SD	Phänotyp Apo E-D m ± SD	α U-Test
Serum - Triglyzeride	102,75 ± 38,08	150,38 ± 89,36	< 0,05
Serum - Cholesterin	201,50 ± 36,86	160,92 ± 50,70	< 0,005
VLDL - Triglyzeride	31,34 ± 16,70	55,20 ± 22,84	< 0,0005
VLDL - Cholesterin	15,68 ± 8,92	41,56 ± 22,45	< 0,0001
r - Wert	0,1533 ± 0,065	0,2928 ± 0,1382	< 0,0001

Tab. VIII Vergleich der lipidchemischen Parameter (Mittelwert ± Standardabweichung) einer Gruppe von Individuen des Phänotyps Apo E-N (n = 24, mittleres Alter ± SD : 39,83 ± 20,14 Jahre) mit einer alters- und geschlechtsgematchten Gruppe des Phänotyps Apo E-D (n = 24, mittleres Alter ± SD : 39,22 ± 21,25 Jahre)

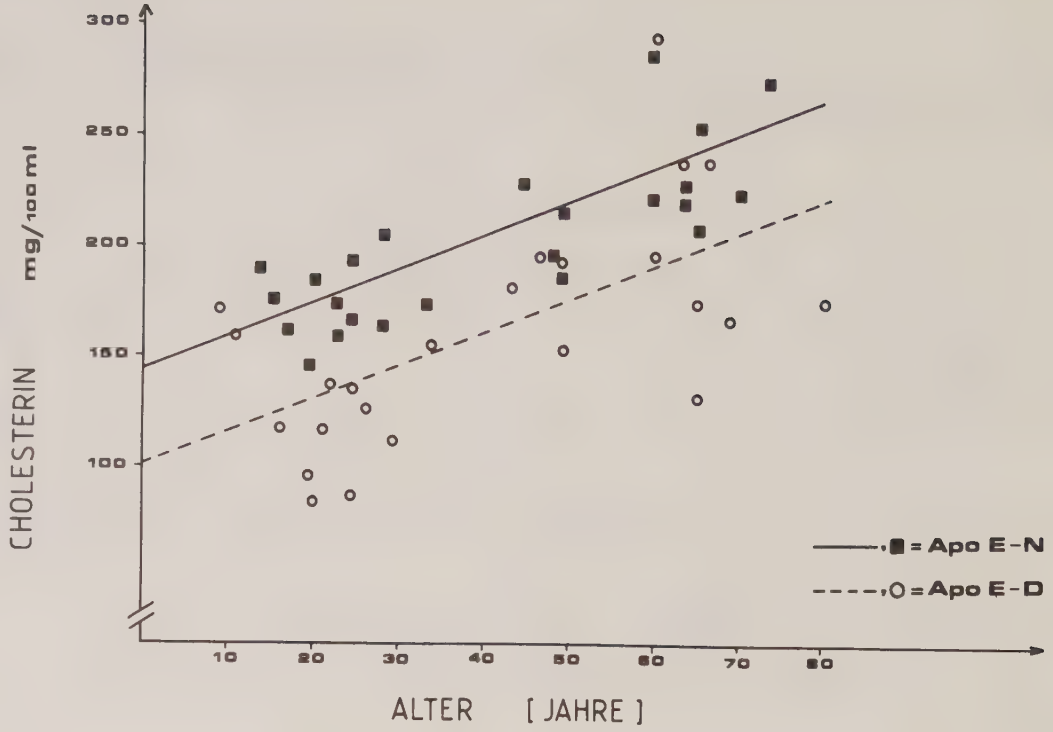


Abb. 9 Korrelation des Serum - Cholesterin - Spiegels mit dem Alter bei 24 Individuen des Phänotyps Apo E-D und 24 nach Alter und Geschlècht gematchten Individuen des Phänotyps Apo E-N.

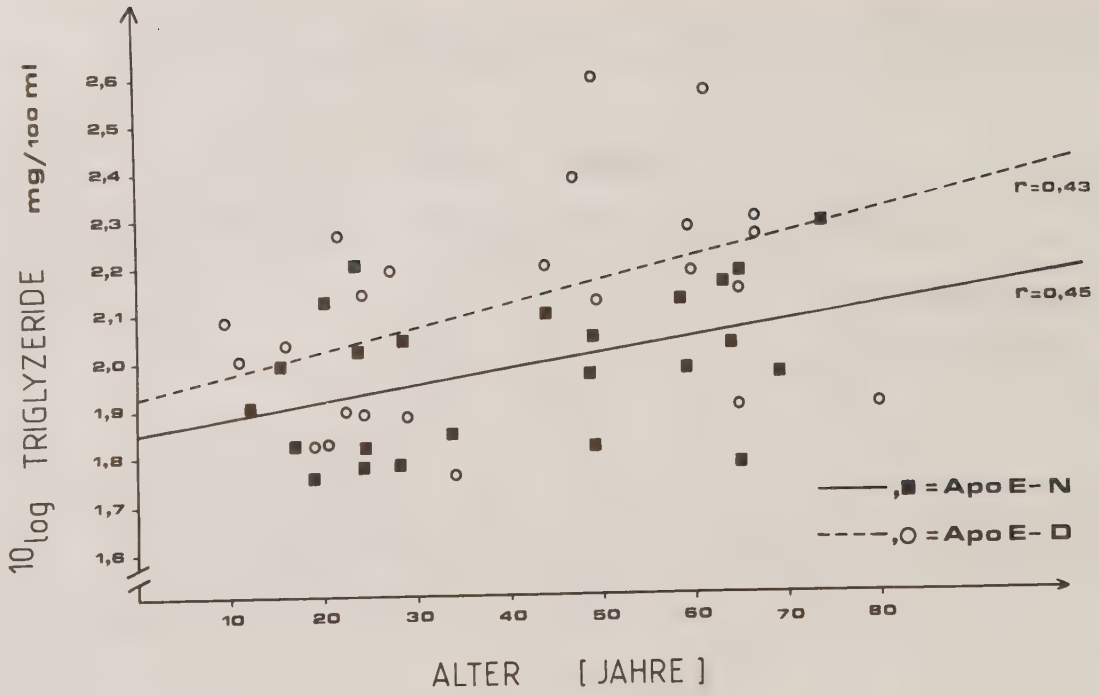


Abb. 10 Korrelation des Serum - Triglyzerid - Spiegels mit dem Alter bei 24 Individuen des Phänotyps Apo E-D und 24 nach Alter und Geschlecht gematchten Individuen des Phänotyps Apo E-N.

Plasma-Lipid-Parameter	Phänotyp	Regressionskoeffizient mg/100 ml xJ.	Achsenabschnitt mg/100 ml	Korrelation mit dem Alter r^x	Mittlerer Lipidwert bei 40 J. mg/100 ml
Cholesterin	Apo E-N	1,42	144,46	+0,785	201,26
	Apo E-D	1,41	103,94	+0,598	160,34
^{10}log Triglyzeride	Apo E-N	0,0033 (1,008)	1,85 (70,8)	+0,427	1.982 (95,9)
	Apo E-D	0,0048 (1,011)	1,92 (83,2)	+0,454	2,112 (129,4)

$r^x = 0{,}4044 \rightarrow \alpha = 0{,}05$; $r = 0{,}5151 \rightarrow \alpha = 0.01$; $r = 0{,}6287 \rightarrow \alpha = 0{,}001$

Tab. IX Ergebnisse der vergleichenden Regressionsanalyse bei den Phänotypen Apo E-N und Apo E-D (Das Material entspricht den Abb. 9 und 10).(Die Trigyzeridwerte in Klammern sind zur Veranschaulichung delogarithmiert).

2.3.4.2. Vergleich der phänotypischen Gruppen Apo E-N und Apo E-ND

a) Bei zwei Blutspendergruppen

Die lipidchemischen Untersuchungen bei 53 Blutspendern vom Phänotyp Apo E-ND und einer gleichgroßen Kontrollgruppe vom Phänotyp Apo E-N sind in Tab. X verglichen.

Der Mittelwert der Serumtriglyzeride liegt bei der phänotypischen Gruppe Apo E-ND höher als bei der des Phänotyps Apo E-N, beide Gruppen unterscheiden sich jedoch nicht signifikant. Die Triglyzeride der Gruppen mit Apo E-ND liegen im Mittelwert zwischen dem niedrigeren Mittelwert der Phänotypen Apo E-N und dem höheren bei den Phänotypen Apo E-D.
Der Mittelwert des Serumcholesterins liegt in der Gruppe der Individuen des Phänotyps Apo E-ND niedriger als der von Probanden mit dem Phänotyp Apo E-N, der Unterschied ist statistisch jedoch ebenfalls nicht signifikant. Auch hier liegt der Mittelwert der Serum-Cholesterine der Phänotypen Apo E-ND zwischen dem niedrigeren Mittelwert der Phänotypen Apo E-D und dem höheren Mittelwert der Phänotypen Apo E-N.
Auch die drei weiteren gemessenen Parameter (VLDL-Triglyzeride, VLDL-Cholesterin, r-Wert) der phänotypischen Gruppe Apo E-ND lassen sich in ihren Mittelwerten zwischen die niedrigeren Mittelwerte der Phänotypen Apo E-N und die höheren Mittelwerte der Phänotypen Apo E-D einordnen. Dabei unterscheiden sich die VLDL-Cholesterine und die r-Werte der Phänotypen Apo E-ND und Apo E-N signifikant ($\alpha < 0{,}005$).

Parameter	Phänotyp Apo E-N m ± SD	Phänotyp Apo E-ND m ± SD	α U-Test
Serum - Triglyzeride	112,98 ± 47,19	132,64 ± 60,70	< 0,10
Serum - Cholesterin	193,32 ± 34,61	184,91 ± 30,94	< 0,30
VLDL - Triglyzeride	36,48 ± 21,45	51,95 ± 38,61	< 0,08
VLDL - Cholesterin	17,37 ± 9,42	23,20 ± 13,20	< 0,005
r - Wert	0,159 ± 0,062	0,208 ± 0,093	< 0,005

Tab. X Vergleich der lipidchemischen Parameter (Mittelwert ± Standardabweichung) einer Gruppe von Blutspendern des Phänotyps Apo E-N (n = 53, mittleres Alter ± SD : 33,6 ± 9,4 Jahre) mit einer alters- und geschlechtsgematchten Gruppe von Blutspendern des Phänotyps Apo E-ND (n = 53, mittleres Alter: 33,7 ± 9,3 Jahre)

b) Bei je 18 Eltern von Probanden des Phänotyps Apo E-ND

Auch beim Vergleich von 18 Eltern des Phänotyps Apo E-ND mit 18 Eltern vom Phänotyp Apo E-N ergab sich in der Tendenz das gleiche Bild wie bei den 53 vorher verglichenen Blutspendern: Die Mittelwerte aller fünf lipidchemischen Parameter beim Phänotyp Apo E-ND lagen wiederum zwischen den Mittelwerten bei den Phänotypen Apo E-N und Apo E-D. Die Ergebnisse des Vergleichs der Elterngruppen zeigt Tab. XI. Auffällig dabei ist, daß in dieser Vergleichsreihe, deren Durchschnittsalter bei ca. 60 Jahren liegt (Durchschnittsalter der Blutspendergruppe ca. 33 Jahre), sich die Serum-Cholesterinwerte der Individuen des Phänotypes Apo E-ND hochsignifikant ($\alpha < 0{,}0005$) von den höheren Serum-Cholesterinwerten der Phänotypen Apo E-N unterschieden.

c) Bei 30 Phänotyp-Vergleichen aus den untersuchten Familien

Dieser Vergleich zeigte wiederum das gleiche Bild mit den zwischen den der Phänotypen Apo E-N und Apo E-D liegenden Mittelwerte des Phänotyps Apo E-ND. Auch bei dem Durchschnittsalter dieser Gruppe von ca. 40 Jahren unterscheiden sich die Serum-Cholesterinwerte der Phänotypen Apo E-ND signifikant ($\alpha < 0{,}05$) von den höheren Werten der Phänotypen Apo E-N (s. Tab. XII).

Parameter	Phänotyp Apo E-N m ± SD	Phänotyp Apo E-ND m ± SD	α U-Test
Serum - Triglyzeride	122,83 ± 54,52	139,28 ± 100,16	< 0,70
Serum - Cholesterin	244,28 ± 34,58	197,50 ± 31,09	< 0,0005
VLDL - Triglyzeride	39,82 ± 36,06	49,28 ± 47,63	< 0,90
VLDL - Cholesterin	20,48 ± 9,75	24,01 ± 11,93	< 0,70
r - Wert	0,1787 ± 0,0707	0,1967 ± 0,0767	< 0,70

Tab. XI Vergleich der lipidchemischen Parameter (Mittelwert ± Standardabweichung) einer Gruppe von Eltern (heterozygoter Probanden) mit dem Phänotyp Apo E-N (n = 18, mittleres Alter: 59,8 ± 6,1 Jahre) mit einer alters- und geschlechtsgematchten Elterngruppe vom Phänotyp Apo E-ND (n = 18, mittleres Alter: 60,5 ± 6,6 Jahre)

Parameter	Phänotyp Apo E-N m ± SD	Phänotyp Apo E-ND m ± SD	α U-Test
Serum - Triglyzeride	92,43 ± 32,90	107,30 ± 60,56	< 0,70
Serum - Cholesterin	199,53 ± 42,52	179,43 ± 34,81	< 0,05
VLDL - Triglyzeride	31,33 ± 16,81	38,77 ± 30,64	< 0,50
VLDL - Cholesterin	14,78 ± 7,36	17,20 ± 8,99	< 0,40
r - Wert	0,1589 ± 0,0574	0,1661 ± 0,0548	< 0,70

Tab.XII Vergleich der lipidchemischen Parameter (Mittelwert ± Standardabweichung) einer Gruppe von Probanden aus den untersuchten Familien mit dem Phänotyp Apo E-N (n = 30, mittleres Alter: 39,0 ± 18,9 Jahre) mit einer alters- und geschlechtsgematchten Familiengruppe vom Phänotyp Apo E-ND (n = 30, mittleres Alter: 40,0 ± 19,2 Jahre)

d) Zusammenfassung der Daten der drei Vergleichsgruppen

Da in den unter a - c verglichenen Gruppen jeweils eine extreme Altersverteilung existierte und jede einzelne der miteinander verglichenen Gruppen relativ klein war, wurden die Daten der drei Gruppen zusammengefaßt und bei nun homogener Altersverteilung die beiden phänotypischen Gruppen verglichen. Die dabei erhaltenen Daten sind in Tab. XIII zusammengestellt. Es zeigt sich wiederum eine Zwischenstellung der Mittelwerte der lipidchemischen Parameter beim heterozygoten Phänotyp Apo E-ND. In diesem Gesamtmaterial wurde eine statistisch signifikante ($\alpha < 0{,}005$) Erniedrigung des Serum-Cholesterins und eine ebenfalls statistisch signifikante ($\alpha < 0{,}01$) Erhöhung des VLDL-Cholesterins bei den Phänotypen Apo E-ND gegenüber den Phänotypen Apo E-N beobachtet.

Der beim Phänotyp Apo E-D signifikante hypertriglyzeridämische Effekt des Gens Apo E^d deutete sich zwar auch beim Phänotyp Apo E-ND an (Zwischenstellung) konnte aber statistisch nicht gesichert werden.
Der beim Phänotyp Apo E-D beobachtete hypocholestrinämische Effekt des Gens Apo E^d läßt sich auch beim Phänotyp Apo E-ND statistisch sichern.

Da sich aus den vorher verglichenen kleinen Gruppen eine zunehmend deutlichere hypocholesterinämische Wirkung mit fortschreitendem Alter vermuten läßt, wurde zur Klärung der Altersabhängigkeit zunächst für die gesamte Gruppe eine lineare Regression durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen Tab. XIV und Abb. 11. Es zeigt sich, daß der Unterschied in der Höhe des Serum-Cholesterins

zwischen Probanden des Phänotyps Apo E-ND und Apo E-N mit zunehmendem Alter größer wird. Um die Frage zu klären, ob diese Eigenart des hypocholesterinämischen Effekts für beide Geschlechter zutrifft, wurde getrennt für Männer und Frauen dieser Gruppe eine lineare Regression durchgeführt. Tab. XIV und die Abbildungen 12 und 13 zeigen, daß sich kein grundsätzlicher Unterschied zwischen Männern und Frauen ergibt.

Parameter	Phänotyp Apo E-N m ± SD	Phänotyp Apo E-ND m ± SD	α	U-Test
Serum - Triglyzeride	108,63 ± 45,86	126,35 ± 69,61	<	0,25
Serum - Cholesterin	204,26 ± 41,26	185,50 ± 32,41	<	0,005
VLDL - Triglyzeride	35,64 ± 21,09	47,42 ± 38,29	<	0,11
VLDL - Cholesterin	17,15 ± 9,04	21,56 ± 12,12	<	0,01
r - Wert	0,1617 ± 0,0632	0,1806 ± 0,0707	<	0,06

Tab. XIII Vergleich der aus den Tab. X - XII zusammengefaßten Daten ($n_{1,2}$ = 101, mittleres Alter der Gruppe Apo E-N: 39,87 ± 15,8 Jahre, der Gruppe Apo E-ND: 40,34 ± 16,02 Jahre). Näheres siehe Text.

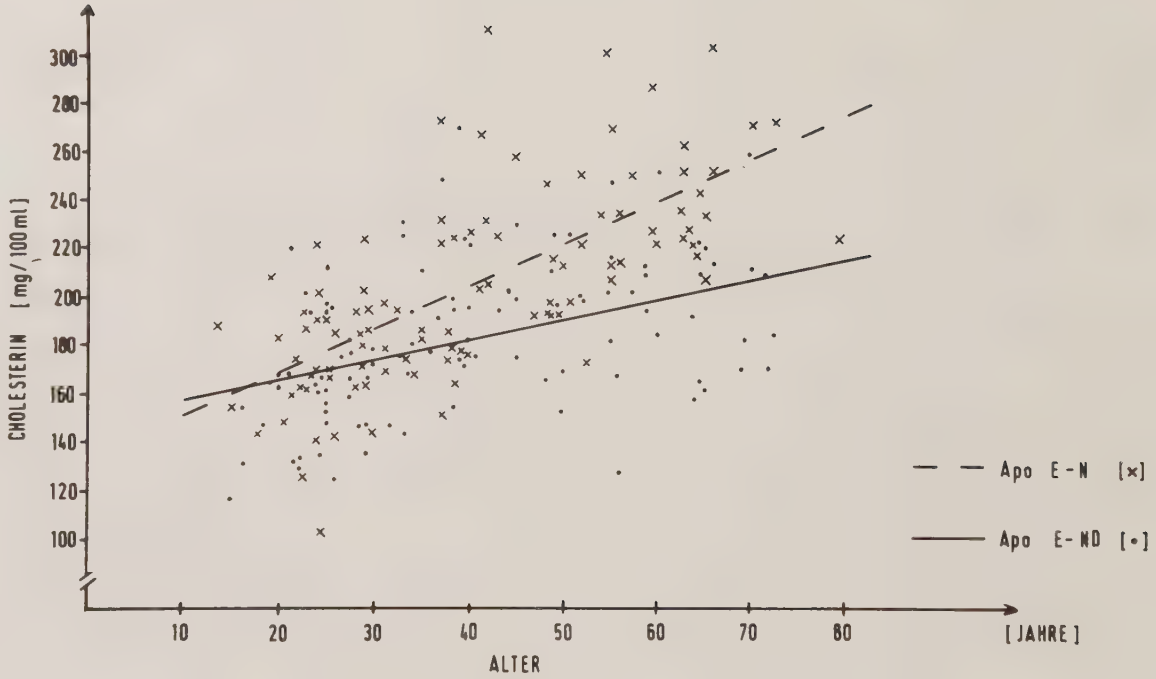


Abb. 11 Korrelation des Serum-Cholesterin-Spiegels mit dem Alter bei 101 Individuen mit dem Phänotyp Apo E-ND und 101 nach Alter und Geschlecht gematchten Probanden des Phänotyps Apo E-N.

	Phänotyp	Geschlecht	Anzahl der Probanden	Regressionskoeffizient mg/100 ml xJahr	Achsenabschnitt mg/100 ml	Korrelation mit dem Alter	Mittlerer Lipidwert bei 40 Jahren mg/100 ml	Standardabweichung über der Regressionsgeraden sy.x mg/100 ml
a	Apo E-N	M u. F	101	1,786	133,05	$0,683^{x}$	204,49	30,30
b	Apo E-N	M	67	1,790	129,51	$0,649^{+}$	201,11	29,94
c	Apo E-N	F	34	1,672	144,66	$0,710^{o}$	211,54	30,73
a	Apo E-ND	M u. F	101	0,878	150,11	$0,492^{x}$	185,23	29,35
b	Apo E-ND	M	67	0,655	157,32	$0,322^{+}$	183,52	28,88
c	Apo E-ND	F	34	1,146	141,23	$0,567^{o}$	187,07	30,09

^{x} $\alpha = 0,001$

$^{+}$ $r = 0,3127 \rightarrow \alpha = 0,01$; $r = 0,3931 \rightarrow \alpha = 0,001$;

^{o} $\alpha = 0,001$

Tab XIV Ergebnisse der vergleichenden Regressionsanalyse bei den Phänotypen Apo E-N und Apo E-ND. Das Material entspricht den Abb. 11 ⟶ (a), Abb. 12 ⟶ (b), und Abb. 13 ⟶ (c).

Abb. 12 Korrelation des Serum-Cholesterin-Spiegels mit dem Alter bei 67 männlichen Individuen mit dem Phänotyp Apo E-ND und 67 altersgematchten männlichen Probanden des Phänotyps Apo E-N.

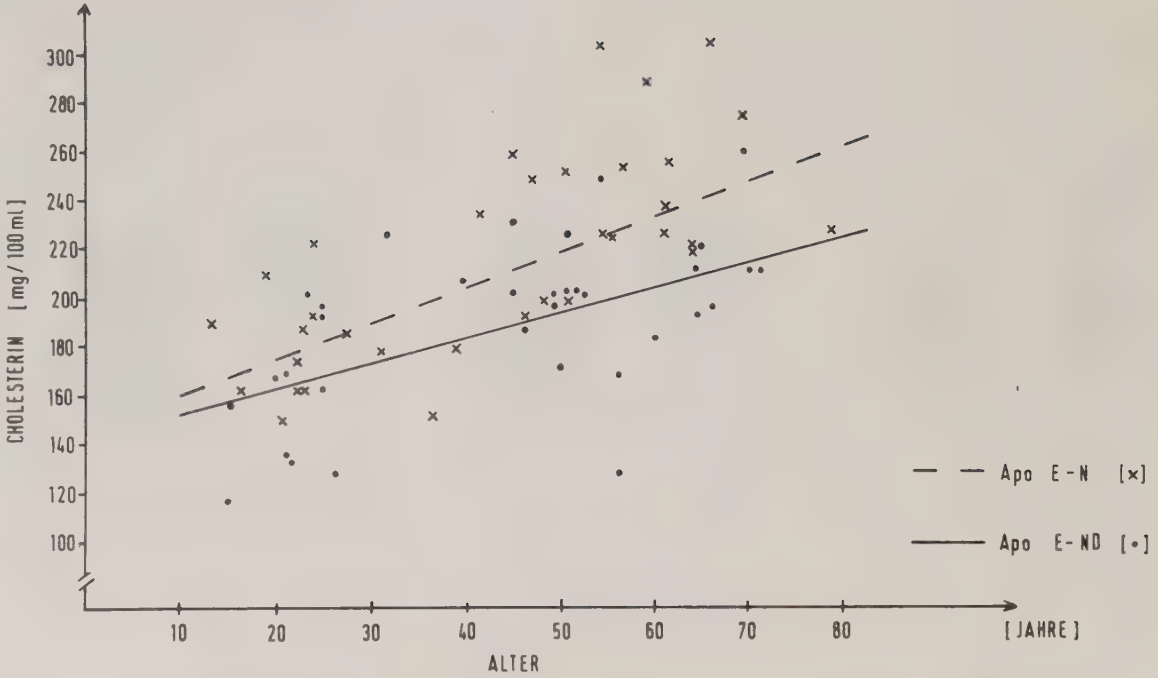


Abb. 13 Korrelation des Serum-Cholesterin-Spiegels mit dem Alter bei 34 weiblichen Individuen mit dem Phänotyp Apo E-ND und 34 altersgematchten weiblichen Probanden des Phänotyps Apo E-N.

2.3.4.3. Vergleich der Lipidelektrophoresemuster bei den Apo E-Phänotypen

Die Lipidelektrophoresemuster wurden nach dem Verhalten der VLDL in drei Klassen eingeteilt:

1) normales Elektrophoresemuster: eine Bande mit prä-β-Mobilität (prä-β-VLDL)

2) Muster mit prä-β-Doppelbande (slow-prä-β-VLDL)

3) Muster mit zusätzlicher Bande im β-Bereich (β-VLDL)

Die drei Muster sind in Abb. 14 dargestellt. Sie kamen bei den einzelnen Phänotypen in deutlich unterschiedlicher Häufigkeit vor (s. Tab. XV).

a) Lipidelektrophoresemuster beim Phänotyp Apo E-N

Von Individuen dieses Phänotyps wurden 129 Lipidelektrophoresen angefertigt. Davon zeigten 102 (= 79,08 %) ein normales Muster und 26 (= 20,15 %) eine slow-prä-β-Bande. Einmal wurde ein Muster mit β-VLDL beobachtet (= 0,77 %).

b) Lipidelektrophoresemuster beim Phänotyp Apo E-ND

Von 97 bei diesem Phänotyp durchgeführten Lipidelektrophoresen entfielen 70 (= 72,17 %) auf ein normales Muster, 18 (= 18,55 %) auf das slow-prä-β-Muster und 9 (= 9,28 %) auf ein Muster mit β-VLDL-Bande. Hierbei fällt der gegenüber dem Phänotyp Apo E-N hohe Anteil der Lipidelektrophoresen mit β-VLDL-Muster auf. Geschlechtsunterschiede wurden nicht beobachtet.

c) Lipidelektrophoresemuster beim Phänotyp Apo E-D

Die von 24 Individuen dieses Phänotyps angefertigten Lipidelektrophoresen zeigten alle (= 100 %) ein ein-

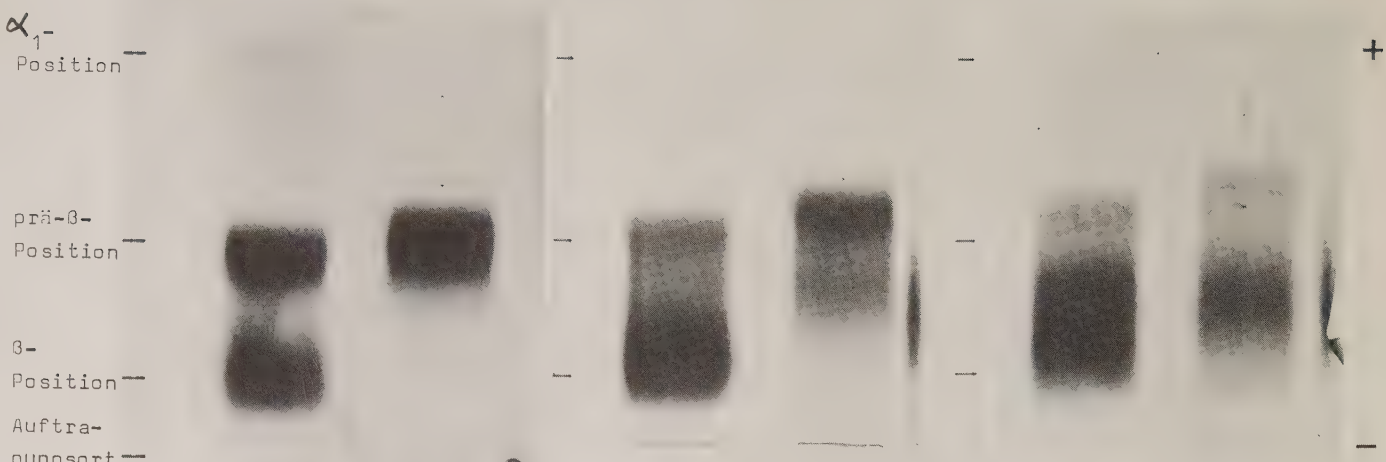


Abb. 14 Charakteristische Muster der VLDL in der Agarosegelelektrophorese
(1 = Serum, 2 = VLDL)
a) VLDL mit β-Mobilität
b) VLDL mit sog. slow-prä-β-Bande
c) VLDL mit typischer β-VLDL-Fraktion

deutiges ß-VLDL-Muster.
Auffallend zeigt sich auch bei den Lipidelektrophoresen im Hinblick auf die Frequenz der ß-VLDL-Muster bei den verschiedenen Phänotypen eine Zwischenstellung des Phänotyps Apo E-ND zwischen den beiden homozygoten Phänotypen.

Rechnet man die erhaltenen Relationen auf 100 Personen eines Bevölkerungsquerschnitts unter Beachtung der Häufigkeit der Apo E-Phänotypen (74) um, so erhält man die folgende Verteilung der Lipidelektrophorese-muster: 77,21 prä-ß-VLDL-, 19,69 slow-prä-ß-VLDL-, und 3,1 ß-VLDL-Muster (s. Tab. XV).
Erstaunlich dabei ist, daß von den 3,1 pro 100 ß-VLDL-Muster nur eine Lipidelektrophorese auf den Phänotyp Apo E-D entfällt. Dies unterstreicht die geringe Spezifität der ß-VLDL zur Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III.

Phänotyp	Elektrophoresemuster (in %) bei den einzelnen Phänotypen			Elektrophoresemuster (in %) in der Bevölkerung+		
	prä-ß	SPB	ß-VLDL	prä-ß	SPB	ß-VLDL
Apo E-N	79,08	20,15	0,77	65,88	16,78	0,64
Apo E-ND	72,17	18,55	9,28	11,33	2,91	1,46
Apo E-D	0	0	100,00	0	0	1,00
T o t a l	-	-	-	77,21	19,69	3,1

+errechnet aus den Frequenzen der Apo E-Phänotypen in der Bevölkerung
SPB = Slow-Prä-ß-VLDL

Tab. XV Häufigkeit der VLDL-Elektrophoresemuster bei den einzelnen Phänotypen und ihr daraus errechnetes Vorkommen in der Bevölkerung

3. Diskussion

Die hier vorgelegten Untersuchungen umschließen Ergebnisse zum methodischen Nachweis des Apo E-Polymorphismus, zur Genetik des Apo E-Polymorphismus und der primären Dysbetalipoproteinämie und Untersuchungen über den Einfluß der Apo E-Genotypen auf den Lipoproteinmetabolismus. Diese drei Hauptpunkte sollen im folgenden getrennt diskutiert werden.

3.1. Diskussion der methodischen Untersuchungen zum Apo E-Polymorphismus

Der Vergleich zwischen der neu entwickelten Heparin-Magnesium-Fällung und der konventionellen Ultrazentrifugenaufarbeitung der VLDL-Apoproteine zeigte, daß beide Methoden im Grunde zu gleichen Ergebnissen führen. Dies bestätigt die Heparin-Magnesium-Fällung als einfache Methode zur Darstellung des Apo E-Polymorphismus und damit auch zur Diagnose der Dysbetalipoproteinämie (primäre Hyperlipoproteinämie Typ III).
Die Einteilung in Phänotypen beruht auf der Bestimmung der Quotienten EII/EIII. Die Trennpunkte zwischen den Phänotypen Apo E-N und Apo E-ND unterschieden sich bei beiden Methoden - bei der Ultrazentrifugenaufarbeitung lag der Trennpunkt bei 0,710 und bei der Heparin-Magnesium-Fällung bei 0,568, d.h. das Verhältnis EII/EIII liegt bei der Ultrazentrifugenaufarbeitung systematisch höher. Dies beeinflußt jedoch nicht die Zuordnung zu den einzelnen Phänotypen. Die Gründe für das verschobene EII/EIII-Verhältnis lassen sich lediglich vermuten. Es könnte einerseits aus einem vorzugsweisen Verlust des Polypeptids Apo EIII während der

Ultrazentrifugation resultieren, oder andererseits durch bevorzugte Präzipitation der EIII-haltigen VLDL-Partikel bei der Heparin-Magnesium-Fällung bedingt sein. Die Trennungspunkte zwischen den Phänotypen Apo E-ND und Apo E-D sind bei beiden Methoden fast identisch.
Die Fällungsmethode erweist sich bei gleicher Spezifität als die empfindlichere Methode gegenüber der Ultrazentrifugation, da zur Darstellung der Apoproteine 1 ml Serum, bei stark hyperlipidämischen Seren sogar weniger ausreicht.
Ein weiterer Vorteil der Fällungsmethode ist in ihrem geringen materiellen Aufwand zu sehen, so daß ihre Durchführung auch im Routinelabor realisierbar erscheint, im Gegensatz zum aufwendigen Ultrazentrifugationsverfahren. Hiermit eröffnet sich einerseits die Möglichkeit, im großen Umfang populationsgenetische Untersuchungen durchzuführen, zum anderen steht hiermit erstmals eine einfache, auf dem Nachweis eines spezifischen genetischen Markers (Phänotyp Apo E-D) beruhende Methode zur Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III zur Verfügung. Denn Utermann und Mitarbeiter (93) konnten zeigen, daß alle Patienten mit primärer Hyperlipoproteinämie Typ III den Phänotyp Apo E-D aufwiesen. Durch die Bestimmung des Apo E-Phänotyps können somit auch die primären, familiären HLP-Typ III-Formen von anderen Hyperlipoproteinämieformen einfach unterschieden werden. Weiterhin werden durch die Bestimmung des Phänotyps Apo E-D Individuen erfaßt, welche keine Hyperlipidämie zeigen, jedoch eine Dysbetalipoproteinämie aufweisen.

Mit der einfach durchzuführenden Heparin-Magnesium-Fällungsmethode lassen sich also aus einer Gruppe von hyperlipidämischen Individuen diejenigen mit familiärer Hyperlipoproteinämie Typ III ausfiltern, in Bevölkerungsuntersuchungen sowohl normo- als auch hyperlipidämische Individuen mit Dysbetalipoproteinämie finden und durch Familienuntersuchungen bereits bei Kindern Aussagen machen über die mögliche Entwicklung einer Hyperlipoproteinämie Typ III im späteren Leben.

3.2. Diskussion der formalen Genetik des Apo E-Polymorphismus und der primären Dysbetalipoproteinämie

Die in dieser Arbeit durchgeführten Familienuntersuchungen stützen die Hypothese, daß die drei Apo E-Phänotypen (Apo E-N, Apo E-ND und Apo E-D) durch die beiden kodominanten Allele Apo E^n und Apo E^d determiniert werden. Ausnahmen von dieser Hypothese wurden nicht beobachtet. Die Vererbung erfolgt unabhängig vom Geschlecht, die Allele Apo E^n und Apo E^d müssen also auf den Autosomen lokalisiert sein. Besonders deutlich wird dies im Stammbaum der Familie Z. Hier konnte die Vererbung der Gene über 3 Generationen beobachtet werden.

Alle Individuen des seltenen homozygoten Phänotyps Apo E-D wiesen eine charakteristische Dysbetalipoproteinämie auf mit "β-VLDL" und erniedrigter bis fehlender LDL_2 Fraktion in der Polyacrylamidgelelektrophorese. Diese Dysbetalipoproteinämie läßt sich durch die Anwesenheit der doppelten Dosis des Allels Apo E^d erklären. Die beste Bezeichnung für diese charakteristische Lipoprotein-Fehlverteilung als "primäre Dysbetalipoproteinämie"fanden Havel und Kane (36).
Die Lipoproteine sind also in charakteristischer Weise fehlverteilt, in der Regel findet man bei diesen Probanden jedoch keine Hyperlipidämie (Fam. Z. II_1 u. III_1; Fam. Ba. III_6). Nur gelegentlich findet sich eine leichte Hypertriglyzeridämie (Probanden II_2 Fam. Kü. und I_2 Fam. Bc). Die Probandin I_2 (Fam. Zu.) mit deutlicher Hypertriglyzeridämie leidet gleichzeitig an einem Diabetes mellitus, so daß sich hier keine Aus-

sage über die Ursache der Hypertriglyzeridämie machen läßt.
Keiner der hier untersuchten Individuen hatte Xanthome, einen arcus lipoides corneae, eine Hyperuricämie oder Zeichen einer coronaren Herzerkrankung. Bei den Probanden II_1, III_1 (Fam. Z.) und der Probandin III_6 (Fam. Ba.) wurde ein Glucosetoleranztest durchgeführt. Er fiel bei keinem der Probanden pathologisch aus. In den Familien dieser Probanden konnten keine Hyperlipoproteinämien gefunden werden.

In der Familie Z. zeigte sich ein Fall von vertikaler Transmission der Dysbetalipoproteinämie. Diese vertikale Transmission stellte sich jedoch als Pseudodominanz heraus, die aus der Heirat eines homozygoten Genträgers (Phänotyp Apo E-D, Genotyp Apo E^d/E^d) mit einem heterozygoten Partner (Phänotyp Apo E-ND, Genotyp Apo E^n/E^d) resultiert (s.o.). Dies stellt wegen der relativ hohen Frequenz des Gens Apo E^d in der Bevölkerung keine Seltenheit dar. Ein weiterer Grund für vertikale Transmission des Typ III-Phänotyps ist das Auftreten einer "β-VLDL" bei ca. 10 % und die Ausprägung einer Dysbetalipoproteinämie mit cholesterinreicher VLDL und stark erniedrigter LDL_2 Fraktion bei ca. 3 % der heterozygoten Genträger (94).

Eine Neuuntersuchung des von Hazzard und Mitarbeitern (40) zuletzt für den dominanten Erbgang der Hyperlipoproteinämie Typ III angeführten großen Stammbaums mit dem qualitativen Apo E -

Marker durch G. Utermann erwies ebenfalls die vorher angenommenen Dominanzen als Pseudodominanzen und führte zur Revision der dominanten zugunsten einer rezessiven Erbgangshypothese für die Dysbetalipoproteinämie.

Der Phänotyp Apo E-D fand sich jedoch auch bei allen Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III (50). Weiterhin stellte Jaeschke (52) fest, daß in Familien mit hyperlipidämischen Probanden vom Phänotyp Apo E-D (Hyperlipoproteinämie Typ III) gehäuft andere Hyperlipoproteinämieformen auftraten, Hyperlipidämien und Apo E-Phänotypen jedoch unabhängig von einander segregierten. In den in dieser Arbeit untersuchten Familien, bei denen von normolipidämischen Probanden des Phänotyps Apo E-D ausgegangen wurde, zeigten sich keine Hyperlipidämien.

Das häufige Auftreten von weiteren Hyperlipoproteinämietypen in Familien von Probanden mit Hyperlipoproteinämie Typ III hat bisher zu den unterschiedlichsten Auffassungen über den Erbgang der Hyperlipoproteinämien geführt (s.S. 18f). Die hier vorgelegten Daten zeigen, daß die Apo E-Phänotypen als solche nicht zu einer Hyperlipidämie führen.

Die grundsätzliche Aussage, die sich aus den Familienuntersuchungen dieser Arbeit, also von Probanden mit normolipidämischer Dysbetalipoproteinämie im Vergleich mit Familienuntersuchungen von Probanden mit hyperlipidämischer Dysbetalipoproteinämie (Hyperlipoproteinämie Typ III) ergibt, kann folgendermaßen präzisiert werden: Den Grunddefekt für die Hyperlipoproteinämie Typ III stellt die Dysbetalipoproteinämie der

Phänotypen Apo E-D dar, die einem autosomal rezessiven Erbgang folgt. Dieser Dysbetalipoproteinämie per se kann nach den Untersuchungen dieser Arbeit kein Krankheitscharakter beigemessen werden. Erwirbt ein Individuum vom Phänotyp Apo E-D von seinen Eltern Anlagen für familiäre Hyperlipidämie, so kommt es zum Auftreten einer besonders schweren Hyperlipidämieform der Hyperlipoproteinämie Typ III. Je nach den additiv ererbten, mutierten, nicht allelen Genen für Hyperlipoproteinämien der verschiedenen Typen können ganz unterschiedliche phänotypische Ausprägungen der Hyperlipoproteinämie Typ III zustande kommen.

Hiernach folgt die Hyperlipoproteinämie Typ III einem polygenen Erbgang, bedingt durch das Zusammentreffen der beiden Gene für die Dysbetalipoproteinämie (Genotyp Apo E^d/E^d) und dazu nicht alleler Gene für familiäre Hyperlipoproteinämien in einem Individuum (s. Abb. 15).

Diese These für die Genetik der Hyperlipoproteinämie Typ III deckt sich mit den inzwischen bekannten Vorstellungen über die Pathophysiologie dieser Krankheit. So fand man einerseits Hinweise für einen Defekt im Abbau der triglyzeridreichen Lipoproteine (VLDL und/oder Chylomikronen) (16, 24, 33, 38). Dieser Defekt läßt die Abbauprodukte (= "remnants") zu unphysiologisch hohen Konzentrationen ansteigen und sich durch die Genkonstellation Apo E^d/E^d (Phänotyp Apo E-D) entstanden denken.
Andererseits stellte man durch kinetische Untersuchungen (71) eine gesteigerte Produktion von VLDL-Partikeln bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ III fest. Diese gesteigerte Lipoproteinproduktion könnte durch die zusätzlichen Gene für Hyperlipoproteinämien geleistet werden.

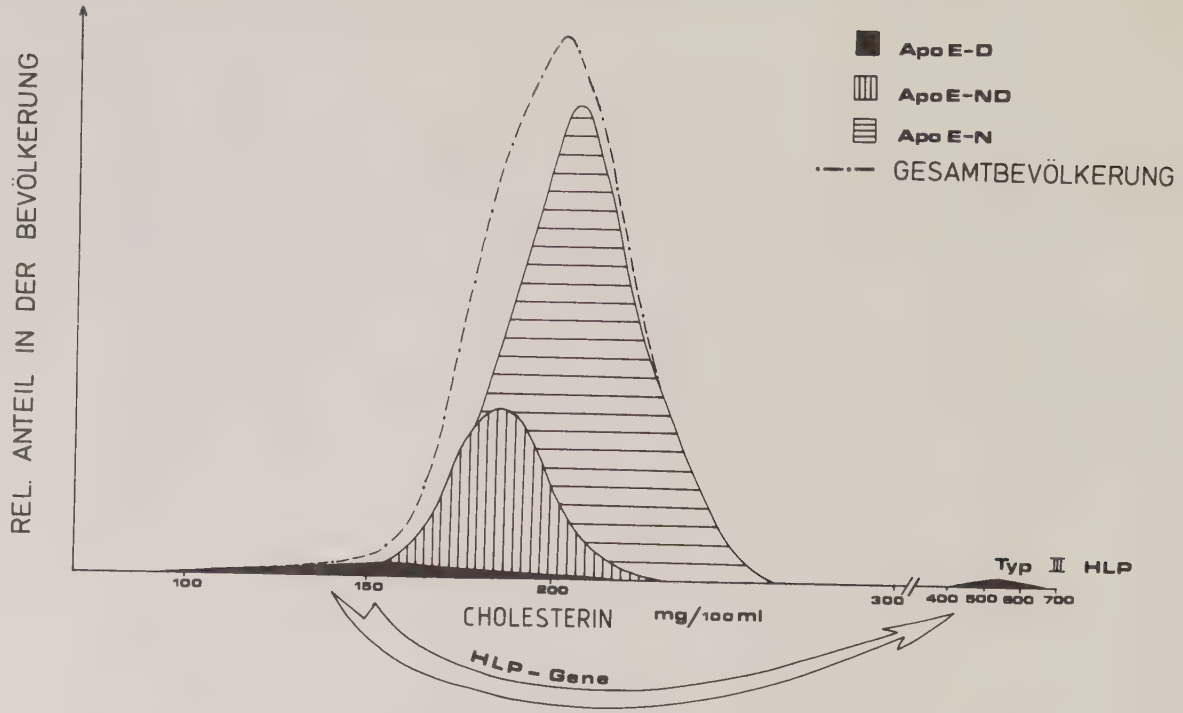


Abb. 15 Modell, das die Verteilung der Serum-Cholesterinspiegel bei den 3 Apo E-Phänotypen darstellt und den Anteil der 3 Phänotypen an der Verteilung der Serum-Cholesterinspiegel in der Bevölkerung veranschaulicht. Der Zusammenhang des Phänotyps Apo E-D mit der Hyperlipoproteinämie Typ III (HLP Typ III) ist durch den Pfeil dargestellt. (Näheres siehe Text)

3.3. Diskussion des Einflusses des Gens Apo E^d auf den Plasmalipidspiegel des Menschen

Schon längere Zeit geben Familienuntersuchungen darüber Aufschluß, daß genetische Faktoren eine große Bedeutung für die Höhe des normalen und auch pathologisch erhöhten Serum-Cholesterinspiegels zukommt. Die postulierten Gene werden dabei auf den Autosomen lokalisiert (1,81). Studien an monozygoten Zwillingen unterstrichen die Einflüsse genetischer Faktoren bei der Ausprägung des Serumlipidspiegels, geben jedoch auch den bestehenden Umweltfaktoren bestimmte Einwirkungsmöglichkeiten (66), wobei z.B. Übergewichtigkeit als teilweise genetisch bedingte Krankheit durch ihre Wirkung auf den Serumcholesterinspiegel die Grenzen zwischen Umweltbedingtheit und genetischer Determinierung verwischt (71).
Stärker ins Detail der einzelnen Lipoproteinfraktionen geht eine neuere Arbeit von Heiberg (45) die monozygote und dizygote Zwillinge vergleicht. Heiberg findet, daß ein beträchtlicher Teil der Serumlipoprotein- und Serumlipidkonzentrationen unter genetischer Kontrolle steht. Der genetische Einfluß wird besonders beim Cholesterin und bei den Gesamtlipiden sichtbar.

Die bisherigen Arbeiten stellen lediglich den genetischen Einfluß fest, geben jedoch mit wenigen Ausnahmen kaum detaillierte Auskünfte über einzelne Gene. So beschreiben Berg et al. (6) einen allerdings sehr schwachen Einfluß des Ag x - locus auf die Plasmalipidspiegel des Menschen. Dahlen et al. (19) beschrieben einen signifikanten Effekt des Lp(a) -

locus auf den Cholesterinspiegel. Dies konnte jedoch von Albers und Mitarbeitern (3) nicht bestätigt werden.

Die vorliegende Arbeit zeigt einen statistisch gesicherten Effekt eines einzelnen polymorphen Genlokus auf den Plasmalipidspiegel des Menschen. Die Gene, welche den Apo E-N/D Polymorphismus determinieren, beeinflussen nicht nur die Plasmakonzentrationen von Cholesterin und Triglyzeriden, sondern auch ihre Verteilung auf die einzelnen Lipoproteinfraktionen.
Das Gen Apo E^d wirkt in doppelter Dosis deutlich hypocholesterinämisch, hypertriglyzeridämisch und verursacht eine Dysbetalipoproteinämie, welche durch erhöhte cholesterinreiche VLDL mit teilweiser β-Mobilität in der Lipidelektrophorese und eine stark erniedrigte bis fehlende LDL_2 Fraktion gekennzeichnet ist.
Bei den Kontrollpersonen vom Phänotyp Apo E-N (Genotyp Apo E^n/E^n) entsprechen die gemessenen Plasmatriglyzerid- und Plasmacholesterinwerte, sowie die altersabhängige Zunahme beider Lipidfraktionen den von Goldstein und Mitarbeitern (31) erhobenen Daten einer großen amerikanischen Stichprobe.
Da die niedrigeren Serum-Cholesterinwerte der Individuen vom Phänotyp Apo E-D in etwa gleicher Weise wie in der übrigen Bevölkerung mit dem Alter korrelieren (s. Abb. 9, S. 51), zeigen Probanden im Alter bis zu etwa 30 Jahren eine Hypocholesterinämie. Alle Probanden zeigten eine erniedrigte LDL_2 Fraktion; die VLD-Lipoproteine waren in der Regel erhöht, bei jüngeren Patienten jedoch nicht immer. Die Probandin III_6 der Fam. Ba. zeigte z.B. eine erniedrigte VLDL-Fraktion. Daher kann die "β-VLDL" in diesen Probanden leicht übersehen und ihr Lipoprotein-Phänotyp kaum von anderen Formen genetisch bedingter Hypobetalipoproteinämien unterschieden werden. Es ist daher anzunehmen, daß die eine

oder andere Familie, die als Hypobetalipoproteinämie beschrieben wurde, in Wirklichkeit eine familiäre Dysbetalipoproteinämie hatte. Dies könnte insbesondere in der von Glueck und Mitarbeitern (26) dargestellten Familie der Fall sein, wo Hypobetalipoproteinämie und Hyperlipoproteinämie Typ III gemeinsam vorkommen.

Das Gen Apo E^d besitzt bereits in der einfachen Dosis also beim Genotyp Apo E^n/E^d einen hypocholesterinämischen Effekt auf den Plasmacholesterinspiegel und bewirkt eine VLDL-Cholesterinerhöhung gegenüber dem Genotyp Apo E^n/E^n. Daraus resultiert eine durch die drei Phänotypen determinierte, sich überlappende Verteilung der jeweiligen Serum-Cholesterinwerte (s. Abb. 15).

Der dyslipoproteinämische Effekt des Gens Apo E^d konnte ebenfalls bereits bei den heterozygoten Genträgern nachgewiesen werden. Sie zeigten trotz erniedrigten Plasmacholesterinspiegels einen erhöhten VLDL-Cholesteringehalt gegenüber dem Genotyp Apo E^n/E^n; daneben konnte bei fast 10 % der Heterozygoten eine "β-VLDL" Subfraktion nachgewiesen werden. Die heterozygoten Individuen tendieren also zu einer milden Dysbetalipoproteinämie.
Die geringe Spezifität der "β-VLDL" zur Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III wird zum einen durch deren Auftreten bei 10 % der heterozygoten Probanden, zum anderen dadurch dokumentiert, daß sie auch bei gesunden Individuen vom Phänotyp Apo E-N nachgewiesen wurden (s. Tab. XV, S. 69).

Nach ihrer Mobilität in der Lipidelektrophorese werden in der VLDL (prä-β-Lipoproteine) drei Subfraktionen unterschieden:

1) "Normale", in der prä-ß-Position wandernde Lipoproteine, die praktisch bei allen Individuen vorkommen.

2) Sogenannte "slow-prä-ß-" oder late-prä-ß-Lipoproteine (LP-ß) bei etwa 30 % der Bevölkerung als zusätzliche Bande in der Lipidelektrophorese jedoch nicht konstant vorkommende Bande (14).

3) Lipoproteine, die in der Ultrazentrifugation bei einer Dichte von d = 1,006 flotieren (VLDL), jedoch in der Lipidelektrophorese in der ß-Position wandern (ß-VLDL).

Nach den Ergebnissen von Carlson und Carlson (13) und Pagnan und Mitarbeitern (67) kommt eine slow-prä-ß-Lipoproteinfraktion assoziiert mit hohem VLDL-Cholesteringehalt bzw. erhöhtem VLDL-(Cholesterin/Triglyzerid)-Verhältnis vor. Die Autoren halten sowohl die slow-prä-ß-Lipoproteine als auch die ß-VLD-Lipoproteine für "remnants", d.h. für die Abbauprodukte normaler VLDL, den Unterschied zwischen beiden Fraktionen sehen sie mehr als quantitativen an. Bei Probanden vom Phänotyp Apo E-ND wäre demnach eine höhere Frequenz von slow-prä-ß-Lipoproteinelektrophoresemustern gegenüber dem Phänotyp Apo E-N wegen der milden Dysbetalipoproteinämie zu erwarten gewesen. Die Analyse der Lipidelektrophoresen bei den einzelnen Phänotypen zeigte jedoch keine unterschiedlichen Häufigkeiten der slow-prä-ß-Muster zwischen den beiden Phänotypen Apo E-N und Apo E-ND. "Remnants" in Form von LP-ß werden also bei allen Personen in der Bevölkerung unabhängig vom Apo E-Phänotyp in einem bestimmten Prozentsatz angetroffen.

Das Auftreten von ß-VLDL und cholesterinreicher VLDL wird als Anhäufung von "remnants", also Abbauprodukten der triglyzeridreichen Lipoproteine angesehen (8, 37, 38, 39). Der Dysbetalipoproteinämie der Phänotypen Apo E-D kann daher der Block im Weiterabbau der "remnants" zu LDL_2 zugrunde liegen. Dieser Block kann als Aufnahmebehinderung der "remnants" in die Leber gedeutet werden, weil den "remnants" mit dem Apoprotein EIII ein möglicher Erkennungsfaktor für Rezeptoren fehlt. Für den Abbau der VLDL-"remnants" fordern Hamilton und Keyden (33) die Bindung der Partikel an die Leberzellen durch Leberzellrezeptoren. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt Cooper (17). Dennoch entsteht keine Hyperlipidämie, wenn nicht andere Gene für Hyperlipoproteinämie dazukommen und durch eine Überlastung des defekten Abbauweges zu einer Hyperlipoproteinämie Typ III führen.
Ein partieller Defekt im Abbau der "remnants" kann auch durch die erhobenen Werte bei Heterozygoten angenommen werden, die relativ weniger Apoprotein EIII besitzen. Das Verhältnis von Gesamt-Apo E/Apo B unterscheidet sich jedoch nicht zwischen den Phänotypen Apo E-N und Apo E-ND (95). Dies läßt vermuten, daß die Anzahl der Apo EIII-Polypeptide pro VLDL-Partikel für deren Abbau eine wichtige Rolle spielt.

Nimmt man an, daß die allelen Gene Apo E^n/E^d einen offensichtlichen Einfluß auf die Lipoprotein- und Cholesterinverteilung auf die verschiedenen Lipoproteinklassen besitzen, so stellt sich die Frage nach einer möglichen Auswirkung dieser Gene auf die Entwicklung von Atherosklerose.
Vom hypocholesterinämischen Effekt des Gens Apo E^d sollte man annehmen, daß homozygote Phänotypen Apo E-D

ein vergleichsweise niedrigeres Risiko besitzen, an Atherosklerose zu erkranken als Homozygote vom Phänotyp Apo E-N. Andererseits hat Zilversmit (102, 103) darauf hingewiesen, daß ein Anstieg von "remnants" im Serum ebenfalls als Risikofaktor für das Entstehen von arteriosklerotischen Gefäßerkrankungen anzusehen ist. Somit würde der dysbetalipoproteinämische Effekt des Gens Apo E^d dem hypocholesterinämischen Effekt des Gens im Bezug auf Atherosklerose entgegenwirken.

Diese Betrachtungsweise wird noch durch das Zusammentreffen und Zusammenwirken anderer genetischer und Umweltfaktoren kompliziert. Dies konnte bei der Genetik der Hyperlipoproteinämie Typ III im vorhergehenden Diskussionsteil gezeigt werden. In die gleiche Richtung zielt die Interpretation der Beobachtung von M. Hees (44) der unter hyperlipidämischen Patienten ein signifikant häufigeres Auftreten der Phänotypen Apo E-ND fand als in der Normalbevölkerung.

4. Zusammenfassung

Das Apolipoprotein E zeigt in der Bevölkerung einen Polymorphismus mit den Phänotypen Apo E-N, Apo E-ND und Apo E-D. Ein weiterer Polymorphismus ist durch eine zusätzliche kathodenwärts gelegene Bande (EIV+Variante) charakterisiert. Der Apo E-Polymorphismus kann nach Isolierung der VLDL durch Ultrazentrifugation oder Heparin-Magnesium-Fällung und anschließende isoelektrische Fokusierung nachgewiesen werden. Diese beiden Methoden wurden im ersten Teil der Arbeit systematisch miteinander verglichen. Dabei zeigten sich beide Methoden vom Ergebnis her als gleichwertig, bei schnellerer Durchführbarkeit der Fällungsmethode. Die Fällungsmethode gestattet einen sicheren und einfachen Nachweis der Phänotypen.

Familienuntersuchungen bestätigen die Hypothese, daß der Apo E-Polymorphismus unter genetischer Kontrolle steht und durch die beiden autosomal kodominanten Allele Apo E^n und Apo E^d determiniert wird. Alle Individuen vom Phänotyp Apo E-D zeigten eine Dysbetalipoproteinämie mit einer "β-VLDL" und einer erniedrigten LDL_2 Fraktion. Der Erbgang der Dysbetalipoproteinämie ist somit autosomal rezessiv.
Regressionsanalysen zeigten, daß Individuen vom Phänotyp Apo E-D gegenüber denen vom Phänotyp Apo E-N einen um etwa 40 mg/100 ml niedrigeren Serum-Cholesterinspiegel und einen um etwa 50 mg/100 ml höheren Serum-Triglyzeridspiegel aufwiesen: d.h. das Gen Apo E^d zeigte in doppelter Dosis einen signifikant hypocholesterinämischen und hypertriglyzeridämischen Effekt.

In einfacher Dosis ließ sich der signifikant hypocholesterinämische Effekt des Gens Apo E^d ebenfalls nachweisen (Mittelwert des Serum-Cholesterins bei Probanden vom Phänotyp Apo E-N 204,26 $\pm$ 41,26 mg/100 ml, vom Phänotyp Apo E-ND 185,50 $\pm$ 32,41 mg/100 ml) ($\alpha < 0{,}005$).
9,28 % der heterozygoten Genträger (Apo E^n/ Apo E^d) zeigten eine "β-VLDL" in der Lipidelektrophorese. Die heterozygoten Individuen nahmen in Bezug auf Serum-Cholesterine und Serum-Triglyzeride, VLDL-Cholesterine und VLDL-Triglyzeride, r-Wert und Lipidelektrophorese eine "Zwischenstellung" zwischen den homozygoten Genträgern Apo E^n/E^n und Apo E^d/E^d ein.

Weiterhin konnte der Erbgang der Apo EIV+Variante als autosomal dominant gesichert werden.

5. Anhang

Lipidchemische Parameter

Blutspender vom Phänotyp Apo E-ND

Proband	Alter	Geschl.	Serum- Triglyzeride	Serum- Cholesterin	VLDL- Triglyzeride	VLDL- Cholesterin	r-Wert
R.A.	20	M	78	162	13,5	12,1	0,155
E.B.	20	F	87	168	37,1	23,4	0,268
T.M.	22	F	84	132	25,3	12,5	0,148
G.B.	22	M	195	133	15,2	12,3	0,063
S.C.	23	F	107	203	28,5	15,7	0,146
O.J.	25	F	56	198	18,2	16,1	0,287
J.N.	24	M	91	161	39,9	16,4	0,179
W.G.	24	M	95	166	30,3	17,5	0,184
D.H.	24	M	54	166	16,1	7,1	0,130
G.R.	24	M	106	136	21,7	15,3	0,144
K.D.	25	M	166	212	95,8	48,0	0,289
S.H.	25	M	160	150	85,3	27,0	0,168
B.U.	25	M	51	196	24,3	8,9	0,174
H.N.	27	M	76	184	29,9	18,6	0,244
J.H.	27	M	70	179	38,8	26,1	0,372
S.G.	27	M	123	168	45,8	25,2	0,204
S.W.	27	M	199	178	44,7	22,2	0,111
L.H.	28	M	249	146	123,2	23,2	0,092
B.G.	28	M	45	148	10,4	15,3	0,338
H.L.	29	M	128	168	33,0	18,2	0,141
K.R.	30	M	132	172	41,6	20,3	0,153
P.H.	30	M	123	180	38,4	28,1	0,228
G.J.	32	M	104	146	33,0	21,5	0,206
N.G.	33	M	164	168	104,8	28,4	0,173
M.H.	33	M	74	142	22,4	21,1	0,285
B.H.	33	M	183	235	74,0	30,1	0,164
S.E.	33	F	228	226	89,2	47,9	0,210
S.H.	33	M	83	176	20,2	7,4	0,088
O.P.	34	M	234	181	153,1	32,4	0,136

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
L.G.	35	M	175	212	53,5	39,4	0,224
M.H.	36	M	270	192	133,9	29,4	0,109
H.R.	36	M	174	253	52,8	10,7	0,061
Z.H.	36	M	75	178	19,6	17,4	0,232
E.W.	37	M	101	156	19,4	22,9	0,226
U.W.	37	M	212	196	33,7	20,8	0,098
B.P.	37	M	136	201	125,4	40,7	0,299
G.H.	34	F	82	197	26,3	19,6	0,238
S.H.	38	M	110	175	40,1	24,7	0,224
K.J.	38	M	252	274	147,0	53,2	0,211
S.E.	39	M	102	176	4,9	10,9	0,106
D.E.	40	M	148	184	34,3	25,5	0,172
C.K.	40	M	177	198	65,2	20,7	0,117
K.G.	43	M	126	196	71,1	24,5	0,194
G.R.	44	M	274	206	128,0	73,1	0,266
N.M.	45	F	81	179	34,4	29,6	0,264
G.E.	48	F	93	200	29,1	7,2	0,077
G.E.	47	M	158	168	53,1	16,3	0,102
K.H.	48	M	106	229	56,2	19,6	0,184
F.W.	48	M	97	213	38,4	8,6	0,088
S.H.	55	M	140	220	44,3	21,1	0,151
K.F.	59	M	219	252	119,6	53,9	0,246
W.O.	53	F	68	203	32,7	7,9	0,116
Blutspender vom Phänotyp Apo E-N							
B.T.	20	M	135	183	48,6	9,7	0,071
B.J.	21	F	85	150	15,4	11,7	0,138
F.W.	22	F	103	173	34,8	16,8	0,163
K.R.	22	M	158	160	62,0	18,1	0,114
S.B.	23	F	94	188	25,0	8,7	0,092
L.R.	24	F	61	193	29,4	14,2	0,232

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
G.A.	24	F	65	221	17,1	17,1	0,262
B.G.	24	M	93	141	21,4	13,7	0,146
K.T.	24	M	66	168	28,9	8,2	0,124
B.K.	24	M	178	170	52,1	6,5	0,036
F.R.	24	M	74	203	11,7	20,3	0,273
M.F.	25	M	78	166	25,6	8,9	0,113
B.R.	25	M	105	170	42,4	16,3	0,155
K.W.	25	M	124	191	36,0	17,0	0,137
M.U.	27	M	112	163	28,8	13,3	0,118
S.W.	27	M	158	185	56,2	9,4	0,059
T.K.	27	M	120	158	32,5	19,1	0,158
P.R.	27	M	164	225	44,3	19,9	0,121
P.N.	28	M	277	205	130,0	36,9	0,133
G.R.	28	M	88	173	22,6	9,6	0,109
H.M.	28	M	68	178	21,2	12,9	0,189
S.R.	29	M	141	198	62,4	22,5	0,157
H.T.	30	M	77	143	48,5	19,9	0,258
K.B.	31	M	76	200	22,5	8,4	0,109
S.U.	31	M	72	171	17,9	7,9	0,109
O.KH.	32	M	168	178	53,6	31,6	0,187
F.H.	32	M	84	198	18,5	16,3	0,194
L.H.	32	F	71	176	23,4	7,0	0,098
R.K.	34	M	85	160	12,6	12,8	0,150
R.W.	35	M	89	188	29,9	15,6	0,175
R.B.	35	M	68	183	30,5	12,3	0,180
B.V.	36	M	101	235	44,5	10,9	0,108
V.F.	36	M	172	223	85,8	21,0	0,122
B.M.	37	M	101	183	14,3	13,1	0,129
K.K.	37	M	79	176	20,3	10,4	0,131
S.R.	37	M	126	181	40,8	16,5	0,122
M.G.	37	M	287	275	26,6	40,4	0,140

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
D.M.	37	F	127	151	36,2	18,0	0,141
K.F.	38	M	153	166	40,0	11,8	0,077
U.G.	38	M	144	226	52,8	19,2	0,133
B.W.	40	M	65	173	25,6	10,8	0,165
H.A.	41	M	104	205	27,0	14,1	0,137
D.G.	41	M	94	208	60,5	25,8	0,273
K.G.	42	M	167	313	69,8	47,4	0,284
K.E.	43	M	126	228	57,4	35,3	0,280
G.L.	46	F	76	191	28,7	14,4	0,189
N.H.	47	F	120	250	52,7	30,7	0,255
K.K.	47	M	92	193	18,8	13,7	0,148
K.D.	48	M	112	185	24,5	14,5	0,129
T.H.	48	M	65	218	5,6	5,7	0,087
S.R.	48	M	109	196	25,7	17,6	0,161
M.H.	59	M	96	222	24,3	25,1	0,260
G.J.	58	F	135	290	51,8	41,5	0,307
Familie Z.							
I_1	78	M	93	206	13,64	11,35	0,122
I_2	73	M	74	186	27,45	17,70	0,239
I_3	64	F	126	213	28,96	16,70	0,132
I_4	78	F	162	226	43,28	26,95	0,166
I_5	73	M	185	173	36,08	26,75	0,144
I_6	71	F	245	211	125,12	40,95	0,167
I_7	68	F	100	245	23,42	28,50	0,285
I_8	65	M	102	236	28,69	25,60	0,250
I_9	64	F	112	223	46,83	24,70	0,220
I_{10}	65	M	185	276	57,73	33,10	0,178

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
I_{11}	63	M	158	181	58,61	37,50	0,237
I_{12}	56	F	92	170	28,62	16,40	0,178
II_1	48	M	131	153	62,55	27,65	0,211
II_2	45	F	67	201	27,87	14,32	0,213
II_3	43	M	57	258	47,74	17,85	0,313
II_4	40	M	113	228	57,87	22,55	0,199
II_5	38	F	86	180	37,93	17,35	0,201
II_6	36	M	75	156	33,27	11,75	0,156
II_7	46	F	64	143	8,05	8,75	0,136
II_8	67	F	132	255	37,81	23,60	0,178
II_9	65	F	150	223	65,87	23,25	0,155
II_{10}	64	M	100	167	57,47	12,95	0,129
II_{11}	63	M	124	228	49,01	26,80	0,216
II_{12}	57	F	165	181	107,01	22,30	0,135
II_{13}	55	M	90	213	29,14	12,30	0,136
II_{14}	52	M	144	226	75,38	22,20	0,154
II_{15}	50	F	56	171	23,27	11,50	0,207
II_{16}	49	F	54	171	34,34	16,35	0,302
II_{17}	45	M	114	218	34,73	13,90	0,121
III_1	22	M	56	81	25,05	7,75	0,138
III_2	16	M	42	132	2,20	8,70	0,207
III_3	21	F	64	170	33,21	13,25	0,200
III_4	17	M	100	173	41,83	18,75	0,187
Familie Ba.							
II_1	65	M	112	165	38,28	18,65	0,116
II_2	64	M	68	160	17,68	13,10	0,192
II_3	54	F	104	236	21,65	21,65	0,190
II_4	54	F	222	175	78,95	42,80	0,192

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
II_5	66	M	60	255	8,40	10,80	0,180
II_6	54	F	92	218	25,65	19,20	0,208
II_7	52	F	115	213	29,57	29,57	0,114
II_8	64	M	145	248	48,50	29,17	0,201
II_9	48	F	90	200	19,00	5,62	0,062
II_{10}	59	M	96	221	24,22	25,00	0,260
III_1	25	F	82	196	14,79	13,73	0,167
III_2	23	M	128	193	45,56	21,96	0,171
III_3	28	M	70	195	20,12	17,73	0,253
III_4	26	F	61	208	15,91	7,11	0,117
III_5	31	M	132	138	30,30	26,70	0,202
III_6	28	F	55	138	16,90	15,95	0,290
III_7	33	F	98	188	24,00	6,75	0,068
III_8	22	M	85	135	8,05	11,40	0,134
III_9	26	M	91	143	18,38	12,89	0,141
III_{10}	24	M	65	101	16,77	12,33	0,189
III_{11}	16	F	68	161	17,41	5,85	0,086
Familie Kü.							
II_1	71	F	178	200	74,46	17,55	0,098
II_2	67	M	183	168	54,64	35,55	0,194
II_3	69	F	128	276	45,83	14,20	0,111
II_4	57	F	65	211	20,51	16,87	0,259
II_5	55	F	103	316	50,59	19,84	0,192
II_6	50	M	82	155	48,28	17,15	0,209
III_1	41	M	121	178	52,34	29,25	0,241
III_2	26	M	166	212	95,83	47,98	0,289
III_3	25	M	282	215	112,00	26,10	0,094
III_4	22	F	58	161	27,23	10,80	0,186
III_5	17	M	96	138	39,62	17,25	0,179

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
Familie Sa.							
I_1	69	M	116	187	-	29,00	0,250
I_2	51	F	95	200	21,60	9,00	0,094
I_3	67	M	141	173	38,26	22,65	0,160
I_4	66	F	89	306	18,63	16,40	0,184
I_5	64	F	148	220	33,67	16,65	0,112
II_1	30	F	61	113	13,67	9,20	0,151
II_2	29	M	48	136	6,77	6,35	0,132
II_3	27	M	112	160	36,48	22,55	0,201
II_4	26	F	50	126	11,30	7,95	0,159
II_5	25	M	45	146	5,42	11,27	0,250
II_6	22	M	50	126	14,34	8,00	0,160
II_7	16	F	40	156	5,56	12,00	0,300
II_8	38	M	110	175	40,11	24,70	0,224
II_9	33	F	228	226	89,16	47,88	0,210
II_{10}	35	M	230	211	112,09	55,34	0,241
Familie Le.							
I_1	66	F	330	193	114,80	52,75	0,160
I_2	61	M	240	268	84,12	35,62	0,148
I_3	60	M	146	201	51,65	35,97	0,246
I_4	57	F	621	356	360,90	262,40	0,422
I_5	50	M	622	215	576,60	101,62	0,163
I_6	50	F	166	286	64,40	34,25	0,206
I_7	63	F	333	343	92,75	43,97	0,132
I_8	60	F	144	123	39,95	17,30	0,120
II_1	25	F	67	180	18,74	20,02	0,299
II_2	19	F	93	189	26,65	11,80	0,127
II_3	31	M	510	200	201,35	56,09	0,110

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
II_4	28	M	249	146	123,16	23,15	0,093
II_5	25	F	61	193	29,41	14,20	0,233
II_6	25	F	185	208	73,71	31,20	0,169
Familie Ri.							
I_1	50	M	206	216	88,00	23,55	0,114
I_2	50	F	368	243	204,84	63,35	0,127
II_1	28	M	86	188	38,57	18,13	0,210
II_2	22	F	57	161	26,75	4,70	0,082
II_3	20	M	78	162	13,53	12,12	0,155
II_4	17	M	57	143	15,63	5,80	0,119
II_5	15	M	100	178	24,29	13,50	0,135
II_6	12	F	57	143	16,61	10,70	0,188
Familie Ko.							
I_1	74	F	112	240	25,10	13,74	0,123
II_1	51	F	115	228	38,38	18,63	0,162
II_2	48	M	106	229	56,17	19,58	0,184
II_3	45	F	90	260	45,39	27,62	0,307
II_4	46	M	132	216	31,50	12,45	0,094
II_5	45	F	73	233	16,49	5,25	0,073
II_6	42	F	64	235	14,38	10,70	0,167
II_7	41	M	90	270	17,28	9,18	0,102
III_1	26	F	83	186	25,00	14,00	0,168
III_2	15	M	50	155	21,91	6,94	0,139
III_3	13	F	80	190	30,40	13,14	0,164

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
Familie S.							
I_1	64	M	132	225	41,70	26,75	0,203
I_2	56	F	80	253	22,80	6,60	0,083
II_1	25	M	147	158	42,19	20,60	0,140
II_2	22	M	188	221	76,67	28,65	0,152
II_3	20	M	144	166	36,28	9,90	0,069
Familie Se.							
I_1	55	M	46	271	27,38	9,22	0,200
I_2	54	F	76	250	16,86	24,61	0,323
II_1	27	M	199	178	44,72	22,20	0,111
II_2	24	M	68	196	22,68	14,75	0,209
II_3	19	F	159	210	71,55	13,25	0,083
Familie F.							
I_1	48	M	97	213	38,40	15,12	0,154
I_2	45	F	659	265	300,50	117,55	0,178
II_1	23	M	74	203	11,69	20,25	0,274
II_2	18	M	104	148	42,32	12,61	0,121
II_3	15	F	69	118	20,00	3,50	0,051
Familie Bc.							
I_1	60	F	195	293	68,00	63,80	0,327
II_1	28	M	45	148	10,40	15,25	0,338
II_2	22	F	177	133	40,75	14,84	0,084
Familie Zu.							
I_1	63	M	93	223	18,90	18,88	0,203
I_2	62	F	375	240	118,56	89,62	0,239

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
II_1	40	M	145	223	39,79	25,65	0,177
II_2	36	M	75	178	19,60	17,40	0,232
II_3	36	M	82	175	24,50	14,71	0,179
II_4	30	M	144	163	30,90	14,18	0,103
Familie Me.							
I_1	69	F	415	263	157,12	51,55	0,124
II_1	33	M	74	142	22,40	21,10	0,285
II_2	25	M	40	158	11,55	4,61	0,115
Familie Bu.							
I_1	66	F	292	218	163,94	38,07	0,130
II_1	39	F	299	226	136,57	35,80	0,120
II_2	33	M	183	235	74,00	30,10	0,164
Familie He.							
I_1	69	M	200	276	66,46	17,77	0,088
I_2	67	F	216	203	76,40	16,40	0,075
II_1	33	F	209	193	77,70	21,80	0,104
II_2	36	M	174	253	52,75	10,65	0,062
Eltern vom Phänotyp Apo E-N heterozygoter Probanden (außer den in Abb. 6 und 7 gezeigten)							
O.J.	65	M	155	208	42,0	18,20	0,117
S.E.	53	M	57	176	10,3	18,20	0,319
W.G.	55	M	96	213	30,7	15,4	0,160
E.B.	63	M	232	263	89,1	37,4	0,161
S.H.	49	M	102	223	14,3	15,8	0,154
T.A.	55	M	166	208	53,4	40,6	0,244

Proband	Alter	Geschl.	Serum-Triglyzeride	Serum-Cholesterin	VLDL-Triglyzeride	VLDL-Cholesterin	r-Wert
H.W.	58	M	184	225	94,7	36,0	0,195
S.L.	62	F	109	256	12,3	3,6	0,032
S.C.	51	F	106	253	31,2	27,3	0,257
F.T.	62	F	79	238	22,5	11,8	0,148
E.R.	56	F	205	236	74,4	25.2	0,122
K.C.	62	F	81	228	17,1	16,1	0,202
Eltern vom Phänotyp Apo E-ND heterozygoter Probanden (außer den in Abb. 6 und 7 gezeigten)							
G.O.	55	M	239	183	81,0	33,3	0,139
S.J.	57	M	97	215	19,9	32,7	0,337
E.A.	69	M	267	183	117,1	40,5	0,152
B.H.	54	M	68	205	19,1	16,3	0,239
B.S.	57	M	72	196	23,3	6,5	0,089
S.T.	43	F	97	148	28,0	6,9	0,071
S.M.	47	F	79	258	34,2	25,6	0,323
T.M	50	F	71	131	22,6	16,6	0,233
H.A.	51	F	82	203	39,1	17,0	0,207
G.G.	52	F	72	201	22,3	15,2	0,211
W.M.	56	F	100	128	31,0	17,6	0,175
S.L.	57	F	133	250	34,1	22,0	0,165
W.L.	60	F	88	183	28,9	14,9	0,169
E.D.	64	F	90	195	30,8	32,7	0,363
S.C.	64	F	90	215	24,0	11,6	0,128

6. Literaturverzeichnis

1) ADLERSBERG, D., SCHAEFER, L.E. and STEINBERG, A.G.: Studies on genetic and environmental control of serum cholesterol level. Circulation 16, 487 - 488, 1957

2) ALAUPOVIC, P.: Apolipoproteins and lipoproteins. Atherosclerosis 13, 141 - 146, 1971

3) ALBERS, J.J. and HAZZARD, W.R.: Immunochemical quantification of human plasma Lp (a) lipoprotein Lipids, Vol. 9, 15 - 26, 1974

4) ALBERS, J.J., WARNICK, G.R., HAZZARD, W.R.: Type III hyperlipoproteinemia: A comparative study of current diagnostic techniques. Lin.Chim.Acta 75, 193 - 204, 1977

5) BEAUMONT, J.L., CARLSON, L.A., COOPER, G.R., FEJFAR, Z., FREDRICKSON, D.S., and STRASSER, T.: Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. Bulletin of WHO 43, 891 - 908, 1970

6) BERG, K., HAMES, C., DAHLEN, G., FRICK, M.H., KRISHAN, J.: Genetic variation in serum low density lipoproteins and lipid levels in man. Proc.nat.Acad.Sci. USA Vol. 73, 937 - 940, 1976

7) BIERMER, J.J., McCAMMON, R.E.: The genetic relationship of abetalipoproteinemia and hypobetalipoproteinemia: A report of the occurence of both diseases within the same family. Journal of laboratory and clinical medicine Vol. 85, 556 - 565, 1975

8) BILHEIMER, D.W., EISENBERG, S., LEVY, R.I.: Abnormal metabolism of very low density lipoproteins in type III. Circulation 44, 41 - 56, 1971

9) BORRIE, P.: Type III hyperlipoproteinemia. Br.Med.J. 2, 665 - 667, 1969

10) BROWN, M.S., and GOLDSTEIN, J.L.: Receptor - mediated control of cholesterol metabolism. Study of human mutants has dissolved how cells regulate a substance that is both vital and lethal. Science 191, 150 - 154, 1976

11) BROWN, H.B., LEWIS, L.A., PAGE, I.H., Mixed hyperlipemia. A sixth type of hyperlipoproteinemia. Atherosclerosis 17, 181 - 196, 1973

12) CARLSON, L.A., BÖTTIGER, L.E.: Ischaemic heart-disease in relation to fasting values of plasma triglycerides and cholesterol. The Lancet 22, 865 - 868, 1972

13) CARLSON, K., CARLSON, L.A.: Comparison of the behaviour of very low density lipoproteins of type III hyperlipoproteinaemia on electrophoreses on paper and on agarose gel with a note on a late (slow) pre-β-VLDL. Scand.J.clin.Lab.invest., 655 - 660, 1975

14) CARLSON, L.A., and ERICSON, M.: Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis Part I. Studies in healthy men and women. Atherosclerosis 21, 417 - 433, 1975

15) CARLSON, L.A., and ERICSSON, M.: Quantitative and qualitative serum-lp-analysis part II: Studies in male survivors of myocardial infarction. Atherosclerosis 21, 435 - 450, 1975

16) CHAIT, A., ALBERS, J.J., BRUNZELL, J.D., HAZZARD, W.R.: Type III HLP ("Remnant Removal Disease") Lancet 1, 1176 - 1178, 1977

17) COOPER, A.D.: The metabolism of chylomicron remnants by isolated perfused rat liver. Biochimica et Biophysica Acta 488, 464 - 474, 1977

18) CURRY, M.D., McCONATHY, W.J., ALAUPOVIC, P., LEDFORD, J.H., POPOVIC, M.: Determination of human apolipoprotein E by electroimmunoassay. Biochimica et Biophysica Acta 439, 413 - 425, 1976

19) DAHLEN, G., BERG, K., ERICSON, C., and NOER, G.: Lp (a) lipoprotein and pre-β_1-lipoprotein in relation to lipid levels in males. Acta med.scand. Vol. 198, 263 - 267, 1975

20) EGGSTEIN, M., KREUTZ, F.H.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. Klin Wschr 44, 262,- 273, 1966

21) EISENBERG, S.: Lipoprotein metabolism and Hyperlipidemia Atherosclerosis Reviews 1, ed. by R. Paoletti and A.M. Gotto, Raven press, New York, Vol. 1 23 - 60, 1976

22) FREDRICKSON, D.S., LEVY, R.J.: Familial hyperlipoproteinemia
in: The metabolic basis of inherited disease, 4th ed., edited by Stanbury, J.B., Wyngaarden, J.B. Fredrickson, D.S., New York, McGraw-Hill, 604 - 655, 1978

23) FREDRICKSON, D.S., LEVY, R.I., LEES, R.S.: Fat transport in lipoproteins- an integrated approach to mechanisms and disorders. New Eng. J. Med. 276, 34 - 43, 94 - 103, 148 - 156, 215 - 224, 273 - 281, 1967

24) FREDRICKSON, D.S., LEVY, R.J., LINDGREEN, F.J.: A comparison of heritable abnormal lipoprotein patterns as defined by two different techniques. The Journal of Clinical Investigation 47, 2446 - 2457, 1968

25) FREDRICKSON, D.S., MORGANROTH, J., LEVY, R.I.: Type III hyperlipoproteinemia: An analysis of two contemporary definitions. Ann. Intern.Med. 82, 150 - 157, 1975

26) GLUECK, J.C., FALLAT, R.W., MELLIES, M.J., and STEINER, P.M.: Pediatric familial Type III hyperlipoproteinemia. Metabolism 25, 1269 - 1274, 1976

27) GLUECK, C.J., LEVY, R.J., FREDRICKSON, D.S.: Immunoreaction insulin, glucose tolerance and carbohydrate induciability in types II, III, IV and V hyperlipoproteinemias. Diabetes 18, 739 , 1969

28) GODOLPHIN, W.J., CONRADI, G., CAMPBELL, D.J.:
Type III hyperlipoproteinemia in a child.
Lancet 2, 209 - 210, 1972

29) GODOLPHIN, W.J., STINSON, R.A.: Isoelectrofocusing
of human plasma lipoproteins in polyacrylamide gels:
Diagnosis of type III HLP (Broad β-Disease)
Clinica Chimica Acta 56, 97 - 103, 1974

30) GOFMAN, J.W., RUBIN, W., McGinley, J.P., JONES, H.B.:
Hyperlipoproteinemia
American Journal of Medicine 17, 514 - 520, 1954

31) GOLDSTEIN, J.L., HAZZARD, W.R. et al.: Hyperlipidemia
in coronary heart disease: I) lipid levels in 500
survivors of myocardial infarction.
The Journal of Clinical investigation 52,
1533 - 1543, 1973

32) GOLDSTEIN, J.L., SCHROTT, H.G., HAZZARD, W.R.,
BIERMANN, E.L., MOTULSKY, A.G.: Hyperlipidemia
in coronary heart disease: II) Genetic analysis of
lipid levels in 176 families and delineation of a
new inherited disorder, combined hyperlipidemia.
The Journal of Clinical investigation,52,
1544 - 1568, 1973

33) HAMILTON, R.L. and KAYDEN, H.J.: The liver and the
formation of normal and abnormal plasma lipoproteins.
The Biologic Chemistry of Disease, Vol. 5, The Liver:
Normal and Abnormal Function (Part A). New York,
Marcel Dekker, 532 - 572, 1977

34) HAVEL, R.J.: Hyperlipoproteinemia: Problems in
diagnosis and challenges posed by the "Type III"
disorder.
Ann. Intern.Med. 82, 273 - 274, 1975

35) HAVEL, R.J., EDER, H.A. and BRAGDON, I.H.:
The distribution and chemical composition of ultracetrifugally separated lipoproteins in human serum.
J.Clin.Invest. 34, 1345 - 1353, 1955

36) HAVEL, R.J., KANE, J.P.: Primary dysbetalipoproteinemia: Predominance of a specific apoprotein species in triglyceride-rich lipoproteins.
Proc.Nat.Acad.Sci. (USA) 70, 2015 - 2019, 1973

37) HAZZARD, W.R. and BIERMANN E.L.: Impaired removal of very low density lipoprotein (VLDL) "remnants" in the pathogenesis of broad-β-disease (type III hyperlipoproteinemia).
Clin.Res. 19, 476, 1971

38) HAZZARD, W.R., BIERMANN, E.L.: The spectrum of electrophoretic mobility of very low density lipoproteins: Role of slower migrating species in endogenous hypertriglyceridemia (type IV hyperlipoproteinemia) and Broad-β-Disease (type III).
J.Lab.Clin.Med. 86, 239 - 252, 1975

39) HAZZARD, W.R., BIERMAN, E.L.: Delayed clearance of chylomicron remnants following vitamin-A-containing oral fat loads in broad-β-disease (type III hyperlipoproteinemia).
Metabolism 25 777 - 801, 1976

40) HAZZARD, W.R., O'DONNELL, T.F., LEE, Y.L.:
Broad-β-disease (type III hyperlipoproteinemia) in a large kindred. Evidence for a monogenic mechanism.
Ann.Int.Med. 82, 141 - 149, 1975

41) HAZZARD, W.R., GOLDSTEIN, J.L., SCHROTT, H.G., MOTULSKY, A.G., BIERMAN, E.L.:
Hyperlipidemia in coronary heart disease:
III) Evalution of lipoprotein phenotypes of 156 genetically defined survivors of myocardial infarction.
J.Clin.Invst. 52, 1569 - 1577, 1973

42) HAZZARD, W.R., PORTE, D., BIERMAN, E.L.:
Abnormal lipid composition of chylomicrons in broad-β-disease (Type III HLP).
J.Clin.Invest. 49, 1853 - 1858, 1970

43) HAZZARD, W.R., PORTE, D., BIERMAN, E.L.:
Abnormal lipid composition of very low density lipoproteins in diagnosis of broad-beta-disease (type III hyperlipoproteinemia).
Metabolism 21, 1009 - 1019, 1972

44) HEES, M.: Primäre Dysbetalipoproteinämie:
Diagnose ohne Ultrazentrifugation, Genhäufigkeit, Genetik.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg 1977

45) HEIBERG, A.: The heritability of serum lipoprotein and lipid concentrations. A twin study.
Clin.Genet. 6, 307 - 316, 1974

46) HEIBERG, A.: Inheritance of xanthomatosis and hyper-β-lipoproteinemia. A study of seven large kindreds.
Clin.Genet. 9, 92 - 111, 1976

47) HEIBERG, A. and BERG, K.: The inheritance of hyperlipoproteinemia with xanthomatosis. A study of 132 kindreds.
Clin.Genet. 9, 203 - 233, 1976

48) HENDERSON, L.D., HERBERT, P.N., FREDRICKSON, D.S., HEINEN, R.J. and EASTERLING, J.C.:
Abnormal concentration and anomalous distribution of apolipoprotein AI in tangier disease.
Metabolism Vol. 27, No 2, 165 - 174, 1978

49) HESSEL, L.W., VERMEER, B.J., POLANO, M.K., DE JONGE, H., DE PAGTER, H.A.TH., VAN GENT, C.M.:
Primary hyperlipoproteinemia in xanthomatosis.
Clinica Chimica Acta 66, 405 - 416, 1976

50) HUTH, K., BLUMENTHAL, J., BÖCKER-STUMM, U., REIMERS, H.J.: Zur Häufigkeit der Verteilung der Hyperlipoproteinämien.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 78, 1337, 1972

51) HUTH, K., KRACHT, J., SCHÖNBORN, W., FUHRMANN, W.:
Tangier-Krankheit (Hypalphalipoproteinämie).
DMW 47, 2357 - 3361, 1970

52) JAESCHKE, M.: Ein neues Kriterium zur Diagnose der Hyperlipoproteinämie Typ III. Die Apo EIII-Defizienz.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg 1977

53) KUSHWAHA, S.R., HAZZARD, W.R., WAHL, P.W., HOOVER, J.J.:
Type III hyperlipoproteinemia: Diagnosis in whole plasma by apolipoprotein E - immunoassay.
Ann.Intern.Med. 87, 509 - 516, 1977

54) LASSER, N.L. and KATZ, S.: The occurence of type II and type III hyperlipoproteinemia in a single kindred. Clin.Res. 20 (Abstr.) 549, 1972

55) LEVY, R.J., FREDRICKSON, D.S., LASTER, L.: The lipoproteins and lipid transport in abeta-lipoproteinemia. Journal of Clinical Investigation Vol. 45, 531-541, 1966

56) LINDGREEN, F.T., ADAMSON, G.L., JENSON, L.C.: Lipid and lipoprotein measuresments in a normal adult American population. Lipids, Vol. 10, 750 - 756, 1975

57) MARIEN, K.J.C., HULSMANS, H.A.M., VAN GENT, C.M.: On a family with coexistence of phenotypes II and III hyperlipoproteinemia. Acta med.Scand. 196, 149 - 153, 1974

58) MARS, H., LEWIS, L.A., ROBERTSON, A.L., BUTKUS, A., WILLIAMS, G.H.: Familial hypo-β-lipoproteinemia American Journal of Medicine 46, 886 - 900, 1969

59) MASKET, B.H., LEVY, R.I. and FREDRICKSON, D.S.: The use of polyacrylamide gel electrophoresis in differentiating type III hyperlipoproteinemia. J.Lab.Clin.Med. 81, 784 - 802, 1973

60) MATHEWS, R.J.: Type III and IV familial hyperlipo-proteinemia. American Journal of Medicine 44, 188 - 199, 1968

61) VAN MELSEN, A., DE GREVE, Y., VANDERVEIKEN, F., VASTERSAEGER, M., BLATON, V., PEETERS, H.: A modified method for phenotyping of hyperlipoprotein-emia on agarose electrophoresis. Clin.Chem.Acta 55 225 - 234, 1974

62) MISHKEL, M.A.: Type III hyperlipoproteinemia with xanthomatosis.
In: Protides of the Biological Fluids.
Ed. by Peeters, H., New York, Pergamon Press
283 - 287, 1971

63) MISHKEL, M.A., NAZIR, D.J., CROWTHER, S.:
A longitudinal assessment of lipid ratios in the diagnosis of type III hyperlipoproteinemia.
Clin.Chim.Acta 58, 121 - 136, 1975

64) MORGANROTH, J., LEVY, R.I., FREDRICKSON, S.D.:
The biochemical, clinical and genetic features of type III hyperlipoproteinemia.
Ann.Intern.Med. 82, 158 - 174, 1975

65) MOSER, H., SLACK, J., BORRIE, P.: Type III hyperlipoproteinemia: A genetic study with an account of the risks of coronary death in first degree relatives (abstract 125).
III. International Symposium on Atherosclerosis, West Berlin, Germany, October 24 - 28, 1973

66) OSBORN, R.H., ADLERSBERG, D., DE GEORGE, F.V., CHUNI WANG: Serum lipids, heredity and environment. A study of adult twins.
American Journal of Medicine 26, 54 - 59, 1959

67) PAGNAN, A., HAVEL, R.J., KANE, J.P. and KOTITE, L.:
Characterization of human very low density lipoproteins containing two electrophoretic populations: double pre-beta-lipoproteinemia and primary dysbeta-lipoproteinemia.
Journal of Lipid Research Vol. 18, 613 - 622, 1977

68) PATSCH, J.R., SAILER, S., BRAUNSTEINER, H., FORTE, T.:
Elektronenoptische Charakterisierung menschlicher Plasmalipoproteine nach Isolierung mittels zonaler Ultrazentrifugation.
Dtsch.med.Wschr. 101, 1607 - 1610, 1976

69) PATSCH, J.R., PATSCH, W., SAILER, S., BRAUNSTEINER, H.:
Familiäre Hyperlipoproteinämie Typ III.
Dtsch.med.Wschr. 101, 1612 - 1619, 1976

70) PATSCH, J.R., SAILER, S., PATSCH, W., BRAUNSTEINER, H.:
Hyperlipoproteinämie Typ III - Diagnose und quantitative Isolierung des charakteristischen Lipoproteins.
Klin.Wschr. 52, 792 - 794, 1974

71) PIKKARAINEN, J., TAKKUNEN, J. and KULONEN, E.:
Serum cholesterol in finnish twins.
American Journal of Human Genetics 18, 115 - 126, 1966

72) PRUIN, N.: Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg (in Vorbereitung).

73) QUARFORDT, S., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S.:
On the lipoprotein abnormality in type III hyperlipoproteinemia.
J.Clin.Invest. 50, 754 - 761, 1971

74) QUARFORDT, S.H., LEVY, R.J., FREDRICKSON, D.S.:
The kinetic properties of VLDL-triglyceride in type III hyperlipoproteinemia.
Biochimica et Biophysica Acta 296, 572 - 576, 1973

75) REIMERS, H.J., HUTH, K., SCHÖNBORN, W., FUHRMANN, W.:
Zur Klinik der Typ III Hyperlipoproteinämie.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 77, 596, 1971

76) ROESCHLAU, P., BERNT, E., GRUBER, W.:
Enzymatische Bestimmung des Gesamt-Cholesterins im Serum.
Z.klin.Chem.klin.Biochem. 12 226 u. 403, 1974

77) ROSE, H.G., KRANZ, P., WEINSTOCK, M., JULIANO, J., HAFT, J.I.: Inheritance of combined hyperlipoproteinemia: Evidence for a new lipoprotein phenotype.
American Journal of Medicine 54, 148 - 161, 1973

78) ROSE, H.G., KRANZ, P., WEINSTOCK, M., JULIANO, J., HAFT, J.I.: Combined hyperlipoproteinemia - evidence for a new lipoprotein phenotype.
Atherosclerosis 20, 51 - 64, 1974

79) SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden, 3. neubearbeitete u. erweiterte Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1972

80) SCANN, A.M., AGGERBECK, L.P., KRUSKI, A.W., LIM, C.T., KAYDEN, H.J.: A study of the abnormal lipoproteins in abetalipoproteinemia.
The Journal of Clinical Investigation Vol 53, 440-453, 1974

81) SCHAEFER, L.E., ADLERSBERG, D., and STEINBERG, A.G.: Heredity, environment and serum cholesterol.
A study of 201 healthy families.
Circulation, XVII, 537 - 542, 1958

82) SCHNEIDER, J., MAURER, M., KAFFARNIK, H.: Häufigkeit der Hyperlipoproteinämie Typ III bei elektrophoretisch nachweisbarer breiter β-Bande.
Klin.Wschr. 52, 941 - 942, 1974

83) SCHROTT, H.G., GOLDSTEIN, J.L., HAZZARD, W.R., GOODWIN, M.M., MOTULSKY, A.G.: Familial hypercholesterolemia in a large kindred. Evidence for a monogenetic mechanism.
Ann.Intern.Med. 76, 711 - 720, 1972

84) SEIDEL, D., GRETEN, H.: Hyperlipoproteinämie - Typ III: Eine Möglichkeit zur immunologischen Diagnostik.
Clin.Chim.Acta 30, 31 - 36, 1970

85) SHEPHERD, J., PACKARD, C.J., DRYBURGH, F.J., THIRD, J.L.H.C.: Diagnosis of Type III hyperlipoproteinemia by chromatography of plasma lipoproteins on columns containing agarose.
Clin.Chem. 21, No 13, 1887 - 1891, 1975

86) SHORE, V.G. and SHORE, B.: Heterogenity of human plasma very low density lipoproteins: Separation of species differing in protein components.
Biochemistry 12, 502 - 507, 1973

87) UNDEUTSCH, D.: Fettstoffwechselstörungen. Physiologie, Pathophysiologie, Untersuchungsmethoden, Epidemiologie und Klinik.
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart - New York 1975

88) UTERMANN, G.: Isolation and partial characterization of an arginine-rich apoprotein from human plasma very low density lipoproteins - apolipoprotein E.
Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 356, 1113 - 1121, 1975

89) UTERMANN, G., CANZLER, H., HEES, M., JAESCHKE, M., MÜHLFELLNER, G.: Studies on the metabolic defect in broad-β-disease hyperlipoproteinemia type III.
Clin.Genet. 12, 139 - 154, 1977

90) UTERMANN, G., HEES, M., STEINMETZ, A.:
Polimorphism of apolipoprotein E and occurence of dysbetalipoproteinemia in man.
NATURE, Vol. 269, 604 - 607, 1977

91) UTERMANN, G., HEES, M., VOGELBERG, K.H.:
Broad-β-disease (hyperlipoproteinemia type III) Genetics, gene frequency and diagnosis without ultracentrifugation.
Electrofocusing and Isotachophoresis. Ed.: B.J. Radola, D. Graesslin, Walter de Gruyter, 281 - 291, 1977

92) UTERMANN, G., ALBRECHT, G., STEINMETZ, A.:
Polymorphism of apolipoprotein E: I) Methodological aspects and diagnosis of hyperlipoproteinemia type III without ultracentrifugation.
Clin.Genet. 14, 351 - 358, 1978

93) UTERMANN, G., JAESCHKE, M., MENZEL, J.:
Familial hyperlipoproteinemia type III: Deficiency of a specific apolipoprotein (Apo EIII) in the very low density lipoproteins.
FEBS Letters 56, 352 - 355, 1975

94) UTERMANN, G., VOGELBERG, K.H., STEINMETZ, A., SCHÖNBORN, W., PRUIN, N., JAESCHKE, M., HEES, M. and CANZLER, H.:
Polymorphism of apolipoprotein E: II) Genetics of hyperlipoproteinemia type III.
Clin.Genet. 15, 37 - 62, 1979

95) UTERMANN, G., PRUIN, N., STEINMETZ, A.:
Polymorphism of apolipoprotein E: III) Effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man.
Clin. Genet. 15, 63 - 72, 1979

96) VESSBY, B.: Studies on the serum lipoprotein composition in 50-year-old men. Suggestion of chemical criteria for diagnosis of hyperlipoproteinemia type III (broad-β-disease). Clin.Chim. Acta 69, 891 - 908, 1976

97) VESSBY, B. and CARLSON, L.A.: Conversion of type III to type IV hyperlipoproteinemia by fat-free, carbohydrate-rich diet. European Journal of clinical Investigation 5, 359 - 364, 1975

98) VESSBY, B., HEDSTRAND, H., CUNDIN, L.G. and OLSSON, U.: Inheritance of type III hyperlipoproteinemia. Lipoprotein patterns in first-degree relatives. Metabolism 26, 225 - 254, 1977

99) WEBER, K., BRAUN-FALCO, O.: Die Hyperlipoproteinämie vom Typ III. Der Hautarzt 24, 179 - 185, 1973

100) WIELAND, H., SEIDEL, D.: Improved techniques of serum lipoprotein patterns: II) Rapid method for diagnosis of type III hyperlipoproteinemia without ultracentrifugation. Clin.Chem. 19, 1139 - 1141, 1973

101) ZELIS, R., MASON, D.T., BRAUNWAHL, E., LEVY, R.J.: Effects of hyperlipidemics and their treatment on the peripheral circulation. The Journal of clinical Investigation 49, 1007-1015, 1970

102) ZILVERSMIT, D.B.: Role of the triglyceride-rich lipoproteins in atherogenesis. Ann.N.Y.Acad.Sci. 275, 138 - 144, 1976

103) ZILVERSMIT, D.B.: A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. Circulation Research 6, XXXIII, 633 - 638, 1973

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Amon, Arndt, Braasch, Buchholz, Daume, Dimroth, Dittrich, Dombrowski, Doss, Eschenbach, Exner, Friedrich, Gerdes, Golenhofen, Graul, Haberich, Hamelmann, Hardewig, Havemann, Heene, Hensel, Hess, Hildebrandt, Hilgermann, Hort, Huch, Ihm, Joseph, Kaffarnik, Klaus, Karlson, Kleine, Kleinsasser, Knauff, Koecke, Koransky, Knoll, Kuni, Lange, Lauer, Lehmann, Lorenz, Ludwig, Maroske, Martini, Neurath, Oepen, Petry, Pohlen, Pots, Riecken, Rodeck, Rohen, Schmitz-Moormann, Schneider, Schüffel, Siegert, Siegrist, Sodomann, Solcher, Sturm, Utermann, Walcher, Wendt, Wesemann, Wiegandt, Willenbockel.

L e b e n s l a u f

Am 9. September 1952 wurde ich als zweites Kind des Landwirtschaftsmeisters Johann Steinmetz und seiner Ehefrau Elsa, geb. Schäfer in Erfenbach, Kreis Kaiserslautern, geboren. Vom April 1959 bis April 1964 besuchte ich die Volksschule in Erfenbach, anschließend das Staatliche Gymnasium am Rittersberg in Kaiserslautern, wo ich im Mai 1972 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Juli 1972 bis Oktober 1972 leistete ich einen Teil der Wehrpflicht ab. Vom WS 1972/73 an studierte ich an der Philipps-Universität Marburg Medizin, vom SS 1974 - WS 1978/79 war ich zusätzlich in Soziologie eingeschrieben.

Am 27.8.74 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, am 30.3.76 den ersten Abschnitt, am 17.3.78 den zweiten Abschnitt und am 18. - 19.4. und 11.5.79 den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung.
Am 5. Juni 1979 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Citydruck · Haugerglacisstraße · 8700 Würzburg